



PASTA DE AZEITE *versus* AZEITE VIRGEM EXTRA

Susana Marisa da Cunha Dias

Dissertação para obtenção do grau de Mestre em
Engenharia Alimentar

Orientador: Doutor José Manuel do Nascimento Baptista de Gouveia

Co-orientador: Doutora Catarina Paula Guerra Geoffroy Prista

Júri:

Presidente: Doutora Maria Suzana Leitão Ferreira Dias Vicente, Professora Auxiliar do
Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Doutora Margarida Gomes Moldão Martins, Professora Auxiliar do Instituto Superior
de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Doutora Catarina Paula Guerra Geoffroy Prista, Investigadora Auxiliar do Instituto
Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Doutor José Manuel do Nascimento Baptista de Gouveia, Professor Aposentado do
Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Lisboa, 2009

"O único lugar onde o sucesso vem antes do trabalho é no dicionário."

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Ao terminar este trabalho, gostaria de expressar alguns agradecimentos:

- Ao meu orientador, Professor Doutor José Manuel do Nascimento Baptista de Gouveia, pela bibliografia cedida, ensinamentos, disponibilidade, interesse e amizade com que me acompanhou ao longo do trabalho;
- À minha co-orientadora, Doutora Catarina Paula Guerra Geoffroy Prista, pelos ensinamentos, disponibilidade, apoio, optimismo e amizade com que me acompanhou ao longo do trabalho;
- À Professora Doutora Maria da Conceição da Silva Loureiro Dias, por me ter indicado para o trabalho de desenvolvimento da pasta de azeite e, também, pelo apoio e amizade demonstrados ao longo do trabalho;
- Ao Laboratório de Estudos Técnicos do Instituto Superior de Agronomia e a todos os seus funcionários, pela realização das análises ao azeite e à pasta de azeite, em especial à Eng.^a Helena Alegre, por toda disponibilidade, conhecimentos transmitidos, apoio e amizade demonstrados ao longo da realização das análises;
- À Fundação Eugénio de Almeida, pela cedência do azeite usado neste trabalho;
- A todos os colegas da “casinha de madeira ao pé do portão da ponte”, meu local de trabalho, pelo apoio, amizade e companheirismo;
- A todos os meus amigos, ao meu irmão e à Marta, pelo apoio e amizade;
- E, finalmente, aos meus pais, pelo apoio incondicional, incentivo, paciência e grande amizade.

RESUMO

Produtos inovadores, de elevada qualidade nutricional, com benefícios salutareos e de conservação alargada, são uma mais-valia no sector alimentar.

Com propriedades benéficas para a saúde e elevada qualidade nutricional, o azeite virgem extra é uma gordura nobre, graças à sua composição química única.

A pasta de azeite, objecto do presente trabalho, é um produto inovador, criado a partir de azeite virgem extra, com consistência semelhante à da manteiga.

Com vista a comparar, quimicamente, a pasta com o azeite de origem, avaliaram-se vários parâmetros, como a acidez, os ácidos gordos totais, os triacilgliceróis, os esteróis, os polifenóis totais, os tocoferóis, o índice de peróxidos, a espectrofotometria no UV e a resistência à oxidação, logo após a produção da pasta e nos dois meses seguintes, tendo sido parte da pasta mantida no frigorífico e a outra à temperatura ambiente. A pasta foi ainda sujeita a análises aos teores de água, gordura e cloretos.

De um modo geral, verificou-se que a qualidade do azeite não é muito afectada no processamento da pasta, dado que, nos parâmetros onde há uma alteração negativa a variação é muito baixa. Verificou-se ainda que há uma melhor conservação da pasta refrigerada em relação à não refrigerada.

Resultados de um inquérito ao consumidor indicam uma boa aceitação da pasta de azeite no mercado e, ainda, que a maioria dos inquiridos reconhece o sabor a azeite no novo produto.

Palavras-chave: Produtos inovadores, pasta de azeite, azeite virgem extra, composição química, qualidade nutricional, conservação.

ABSTRACT

Innovative products of high nutritional quality, with healthy benefits and extended conservation are an asset to the food sector.

With beneficial health properties and high nutritional quality, extra virgin olive oil is an extraordinary fat, thanks to its unique chemical composition.

The olive oil spread, subject of this study, is an innovative product, created from extra virgin olive oil, with a consistency similar to butter.

In order to chemically compare the spread with the original olive oil sample, various parameters were evaluated after the production of the spread, a month and two months later, such as acidity, total fatty acids, triacylglycerols, sterols, total polyphenols, tocopherols, peroxide value, UV spectrophotometry and the resistance to oxidation. Part of the spread was kept in the refrigerator and the other at room temperature. It was also determined the water, fat and chloride content of the spread.

Generally, it was found that the quality of olive oil is not much affected during the production of the spread, since that, in the parameters where there is a negative change, the variation is very low. It was also found that there is a better conservation of the refrigerated spread when compared with the non-refrigerated.

Results of a consumer survey indicate a good acceptance of the olive oil spread in the market and also that most respondents recognized the taste of olive oil in the spread.

Keywords: Innovative products, olive oil spread, extra virgin olive oil, chemical composition, nutritional quality, conservation.

EXTENDED ABSTRACT

The development of innovative products has become an activity increasingly needed and valued in the food sector. Trends in this industry are determined, primarily, by the needs and demands of consumers. Nutritional quality, health benefits and conservation are some of the most relevant selection criteria.

Extra virgin olive oil has unique characteristics of purity and authenticity that make it a food product of excellence, much sought by the consumer. The well-known properties beneficial to health, the high nutritional and extraordinary organoleptic quality of this product are due to its chemical composition, characterized by a high percentage of monounsaturated fatty acids and the presence of natural antioxidants.

The olive oil spread, subject of this study, was developed following a research project which aimed to create an innovative product, almost exclusively from extra virgin olive oil and with a consistency similar to butter, maintaining, as much as possible, the beneficial properties of virgin olive oil. Some of the chemical characteristics that are necessary to maintain in the spread are the high oleic acid content, the significant concentration of antioxidant compounds, comparatively to other fats, the presence of essential fatty acids, the low concentration of saturated fatty acids and the absence of significant quantities of cholesterol and *trans*-fatty acids.

Once the ideal formula and laboratory procedure were defined, and in order to compare the spread to the original olive oil sample in terms of nutrition and conservation, a series of chemical analysis took place.

It was determined the degree of acidity, the fatty acid and *trans*- fatty acid composition, the triacylglycerol composition, the sterol content, the level of erythrodiol + uvaol, the total polyphenol content, the tocopherol composition, the peroxide value, the spectrophotometric parameters (K_{232} , K_{270} and ΔK) and the resistance to oxidation.

In the olive oil spread, it was also determined the water, the fat and the chloride contents, analyses usually performed in margarines and other spreads. It was also carried out a consumer survey to assess the acceptance of this new product on the market, as well as the perception of the characteristics of taste and smell of olive oil in the spread.

The laboratory analyses were performed immediately after the production of the spread and, again, a month and two months later. Part of the spread was stored in the refrigerator and the other at room temperature.

The results do not show relevant changes between the olive oil and the spread in the following parameters: triacylglycerol composition, stigmasterol and Δ -7-stigmastenol content, total sterol content, eritrodiol and uvaol content, tocopherol composition, peroxide value, spectrophotometric analyses in the UV light and the resistance to oxidation.

It appears to occur a slight loss of quality in the spread in terms of acidity degree, ratio between saturated and unsaturated fatty acids, oleic and linoleic acid content and cholesterol, campesterol and apparent sitosterol content. Nevertheless, the changes verified, for the most part, do not greatly impair the olive oil quality, since the differences are very little. The only exception appears to be the saturated fatty acids content, which has a larger variation between the olive oil and the spread. However this change is necessary to maintain the desired solid consistency of the spread.

The analysis of the olive oil spread show a decrease in the humidity of the spread when it is stored at room temperature. As for the results concerning the fat and chloride content there seems to be no relevant changes between the refrigerated and the non-refrigerated spread.

For the different storage temperatures of the spread, the results obtained on some parameters showed that the spread stored in the refrigerator is better preserved than the one at room temperature.

The analysis of the consumer surveys shows a good acceptance of the olive oil spread in the market and also indicates that most respondents recognized the taste of olive oil in the spread.

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	i
RESUMO	ii
ABSTRACT	iii
EXTENDED ABSTRACT	iv
ÍNDICE	vi
LISTA DE QUADROS	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. AZEITE	5
2.1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA.....	5
2.1.1. Fracção saponificável	6
2.1.1.1. Ácidos gordos e triacilgliceróis	6
2.1.1.2. Mono e diacilgliceróis	8
2.1.1.3. Fosfolípidos	9
2.1.2. Fracção insaponificável	9
2.1.2.1. Hidrocarbonetos	9
2.1.2.2. Compostos esterólicos e terpénicos	10
2.1.2.3. Álcoois alifáticos e ceras	13
2.1.2.4. Compostos fenólicos	14
2.1.2.5. Tocoferóis	15
2.1.2.6. Compostos voláteis	16
2.1.2.7. Pigmentos	17
2.2. QUALIDADE DO AZEITE	17
2.2.1. Parâmetros de qualidade.....	18
2.2.2. Classificação do azeite	19
2.2.3. Factores que afectam a qualidade do azeite	20
2.2.4. Processos de deterioração	20
2.2.4.1. Lipólise	20
2.2.4.2. Oxidação	21

2.2.4.2.1.	Oxidação enzimática	21
2.2.4.2.2.	Auto-oxidação.....	22
2.2.4.2.3.	Foto-oxidação.....	24
2.3.	BENEFÍCIOS PARA A SAÚDE.....	25
2.3.1.	Dieta mediterrânea.....	25
2.3.2.	Mecanismos protectores do azeite	26
3.	PARTE EXPERIMENTAL	29
3.1.	MATERIAL	29
3.2.	MÉTODOS.....	29
3.2.1.	Acidez	30
3.2.2.	Ácidos gordos totais e isómeros <i>trans</i>	31
3.2.3.	Triacilgliceróis	32
3.2.4.	Esteróis totais, eritrodiol e uvaol	32
3.2.5.	Polifenóis totais.....	33
3.2.6.	Tocoferóis	34
3.2.7.	Índice de peróxidos.....	35
3.2.8.	Análise espectrofotométrica no UV	35
3.2.9.	Resistência à oxidação.....	36
3.2.10.	Teor de água.....	36
3.2.11.	Teor de gordura	37
3.2.12.	Teor de cloretos	38
3.2.13.	Inquérito ao consumidor.....	38
4.	NOVO PRODUTO <i>versus</i> AZEITE	41
4.1.	ACIDEZ.....	41
4.2.	ÁCIDOS GORDOS TOTAIS E ISÓMEROS TRANS	42
4.3.	TRIACILGLICERÓIS.....	45
4.4.	ESTERÓIS TOTAIS, ERITRODIOL E UVAOL	47
4.5.	POLIFENÓIS TOTAIS	50
4.6.	TOCOFERÓIS	51

4.7.	ÍNDICE DE PERÓXIDOS	53
4.8.	ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA NO UV	54
4.9.	RESISTÊNCIA À OXIDAÇÃO.....	55
4.10.	TEOR DE ÁGUA	56
4.11.	TEOR DE GORDURA	57
4.12.	TEOR DE CLORETOS.....	58
4.13.	INQUÉRITO AO CONSUMIDOR	59
5.	CONCLUSÕES	63
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66

LISTA DE QUADROS

QUADRO I: Limites estabelecidos para a composição em ácidos gordos do azeite.....	7
QUADRO II: Limites estabelecidos para a composição em esteróis do azeite.....	13
QUADRO III: Resultados obtidos relativamente à acidez.....	41
QUADRO IV: Resultados obtidos relativamente à composição em ácidos gordos	43
QUADRO V: Resultados obtidos relativamente à composição em triacilgliceróis	46
QUADRO VI: Resultados obtidos relativamente à composição em esteróis	47
QUADRO VII: Resultados obtidos relativamente ao teor de esteróis totais.....	49
QUADRO VIII: Resultados obtidos relativamente ao teor de eritrodiol + uvaol	50
QUADRO IX: Resultados obtidos relativamente ao teor de polifenóis totais	51
QUADRO X: Resultados obtidos relativamente ao teor de tocoferóis	51
QUADRO XI: Resultados obtidos relativamente ao índice de peróxidos.....	53
QUADRO XII: Resultados obtidos relativamente à análise espectrofotométrica no UV	54
QUADRO XIII: Resultados obtidos relativamente à resistência à oxidação	55
QUADRO XIV: Resultados obtidos relativamente ao teor de água da pasta de azeite	56
QUADRO XV: Resultados obtidos relativamente ao teor de gordura da pasta de azeite.....	57
QUADRO XVI: Resultados obtidos relativamente ao teor de cloretos da pasta de azeite	58
QUADRO XVII: Resultados do inquérito ao consumidor relativos à classificação do produto	60

LISTA DE FIGURAS

Fig. 1: Biossíntese dos triacilgliceróis	7
Fig. 2: Estrutura química do esqualeno.....	10
Fig. 3: Núcleo tetracíclico dos esteróis.....	11
Fig. 4: Origem dos compostos de natureza terpénica e esterólica	11
Fig. 5: Principais compostos fenólicos do azeite.....	15
Fig. 6: Estruturas químicas dos tocoferóis presentes no azeite.....	16
Fig. 7: Oxidação enzimática de ácidos gordos polinsaturados	22
Fig. 8: Evolução da acidez no azeite e na pasta.....	41
Fig. 9: Evolução da percentagem de ácido oleico no azeite e na pasta	44
Fig. 10: Evolução da percentagem de ácidos gordos saturados no azeite e na pasta	44
Fig. 11: Evolução da percentagem de ácido linoleico no azeite e na pasta.....	45
Fig. 12: Evolução da percentagem de ácido linolénico no azeite e na pasta.....	45
Fig. 13: Evolução do teor de colesterol no azeite e na pasta.....	48
Fig. 14: Evolução do teor de campesterol no azeite e na pasta	48
Fig. 15: Evolução do teor de β -sitosterol aparente no azeite e na pasta	49
Fig. 16: Evolução do teor de esteróis totais na matéria seca do azeite e da pasta	49
Fig. 17: Evolução do teor de eritrodiol + uvaol no azeite e na pasta.....	50
Fig. 18: Evolução do teor de α -tocoferol na matéria seca do azeite e da pasta	52
Fig. 19: Evolução do teor de γ -tocoferol no azeite e na pasta.....	52
Fig. 20: Evolução do índice de peróxidos (IP) no azeite e na pasta	53
Fig. 21: Evolução do valor de K_{232} no azeite e na pasta	54
Fig. 22: Evolução do valor de K_{270} no azeite e na pasta	55
Fig. 23: Evolução da resistência à oxidação no azeite e na pasta.....	56
Fig. 24: Evolução do teor de humidade na pasta de azeite	57
Fig. 25: Evolução do teor de gordura na matéria seca da pasta de azeite	58
Fig. 26: Evolução do teor de cloretos na matéria seca da pasta de azeite.....	59
Fig. 27: Classificação da pasta de azeite quanto aos critérios avaliados no inquérito ao consumidor.....	61
Fig. 28: Apreciação global da pasta de azeite e intenção de compra.....	62

1. INTRODUÇÃO

O sector alimentar é cada vez mais pressionado pela demanda do consumidor por novos produtos, que aliem um elevado valor nutricional a uma experiência gastronómica única. As empresas de géneros alimentícios não só são obrigadas a lançar para o mercado alimentos que vão de encontro aos requisitos dos seus clientes, mas também, aos critérios de qualidade exigidos pela lei. Para atingir estes propósitos, é necessário um longo processo de investigação antes de se lançar para o mercado um produto novo.

Os produtos alimentares novos são, normalmente, descritos como a força das empresas do sector alimentar. Estas empresas acabariam, eventualmente, por definhar e desaparecer se apenas oferecessem ao mercado os seus velhos produtos, ano após ano. Os benefícios decorrentes de um novo produto bem sucedido podem ser extraordinários, mas se os produtos fracassam, a empresa pode incorrer em perdas financeiras graves (Fuller, 2005).

A indústria alimentar não determina as tendências, procura sim dar resposta às necessidades e exigências dos consumidores, desenvolvendo tecnologias inovadoras e géneros alimentícios que resolvam problemas de carência e que vão de encontro ao que o consumidor quer. Esta indústria empenha-se em tornar a cadeia fornecedora mais eficiente e criar produtos e tecnologias mais económicos (Toops, 2007).

A inovação ao nível do sector alimentar pode assumir diferentes vertentes, podendo implicar a criação de produtos com um carácter verdadeiramente inovador, alterações na linha de produção de um produto já existente que conduzam a uma nova variedade desse produto, ou ainda, a reformulação de um produto em consequência de novas tendências ou da legislação. De qualquer forma, a inovação pode permitir ao sector alimentar fornecer ao consumidor produtos com prazos de validade mais alargados e alimentos mais seguros, mais acessíveis e, globalmente, disponíveis (Fuller, 2005; Toops, 2007).

As tendências alimentares evidenciadas nos últimos anos incluem (Ridgwell, 2001):

- Aumento do número de novos produtos e da variedade dos mesmos;
- Desenvolvimento de alimentos étnicos autênticos;
- Aumento do consumo de sanduíches;
- Aumento do consumo de produtos alimentares tradicionais;

- Maior oferta de produtos saudáveis, especialmente os *low-fat* e os *no-fat*;
- Aumento da variedade de produtos hortícolas usados na gastronomia;
- Maior número de novos produtos para crianças;
- Aumento da oferta de produtos biológicos e de produtos adequados para vegetarianos;
- Maior oferta de alimentos para microondas.

Estas tendências mostram que o consumidor actual privilegia produtos alimentares que ofereçam mais conveniência, maior variedade e uma qualidade nutricional superior, com benefícios para a saúde.

Investigação acerca das tendências futuras mostra que estas vão continuar a incidir no aumento da conveniência e da variedade de escolha, na demanda por alimentos mais saudáveis e por ingredientes orgânicos, no maior número de produtos para microondas e produtos em porções individuais, e ainda no desenvolvimento de novos produtos com uma aparência e sabor mais “caseiros” (Ridgwell, 2001).

O valor acrescentado é uma característica que se pretende atingir no desenvolvimento de qualquer produto novo. Este conceito descreve o grau de inovação ou de modificação que torna o produto mais desejado pelos clientes e consumidores. A novidade pode ser uma melhoria na estabilidade ou na funcionalidade do produto, uma cor ou textura mais apelativa, ou ainda uma maior conveniência, mas seja qual for, os consumidores querem-na (Fuller, 2005).

A preocupação com a saúde e a nutrição representa um critério de escolha, por parte dos consumidores, cuja importância tem vindo a crescer ao longo dos anos. Este fenómeno pode ser devido ao envelhecimento da população, ou à ênfase dada pela comunicação social às questões nutricionais, ou ainda a uma melhoria na educação nutricional. De qualquer forma, o valor nutricional dos alimentos tornou-se numa verdadeira questão de marketing alimentar (Best, 1999). Sendo assim, uma melhor composição nutricional oferece ao novo produto alimentar um valor acrescentado bastante apelativo.

Para promover uma boa saúde e longevidade ao consumidor, o seu regime alimentar deve atingir um determinado balanço nutricional, fornecendo energia (calorias) suficiente, bem como vitaminas, minerais e outros nutrientes essenciais, de forma a prevenir carências e a manter o metabolismo regularizado. Ao mesmo tempo, a dieta não deve incluir excessos nutricionais de qualquer ordem, uma vez que estes podem promover o desenvolvimento de

doenças crónicas (Nestle, 2007).

Um outro valor acrescentado de elevado interesse por parte do consumidor consiste numa melhor conservação do novo produto. Alargando o prazo de validade de um género alimentício, atinge-se uma maior satisfação nos mercados onde o produto já existe, sendo ainda possível a entrada em novos mercados, com uma maior área de distribuição (Fuller, 2005).

Algumas tecnologias, como o embalamento em atmosfera modificada e em atmosfera controlada, têm permitido alargar o tempo de prateleira de numerosos produtos. No caso da conservação de óleos e gorduras, a maior dificuldade está nas reacções de alteração lipídica, inevitáveis durante ou após o processamento dos mesmos. Estas reacções, que afectam a qualidade do alimento, são o resultado de factores externos (reagentes, condições, processos), não sendo necessariamente devidas a um mau tratamento. Uma das reacções mais importantes é a oxidação lipídica (Hoffmann, 1989). Este problema pode ser resolvido através da adição de compostos antioxidantes, cuja presença promove uma maior estabilidade oxidativa e um alargamento do tempo de prateleira dos óleos e gorduras comestíveis (O'Brian, 2009).

O azeite é usado na gastronomia desde a antiguidade, sendo um ingrediente obrigatório na dieta mediterrânica. A sua composição química única coloca-o numa posição privilegiada entre todos os óleos e gorduras comestíveis. Com benefícios para a saúde, já largamente conhecidos e comprovados, e excepcionais qualidades organolépticas, o azeite é um alimento cada vez mais procurado pelo consumidor.

Neste contexto, surgiu a ideia de criar um produto inovador, o “azeite sólido”, que permitisse uma nova forma de utilização, idêntica à de qualquer creme para barrar ou manteiga, preservando, o mais possível, as características benéficas dos azeites virgens, de modo a que ele se destacasse, positivamente, entre as outras gorduras para barrar existentes no mercado. Tendo em conta estes aspectos, foi desenvolvido um produto quase exclusivamente à base de azeite virgem extra, com uma consistência semelhante à da manteiga – a pasta de azeite.

O presente trabalho tem como objectivo comparar, sob o ponto de vista nutricional e de conservação, o novo produto com o azeite que lhe deu origem. Através de análises tipicamente realizadas ao azeite para avaliar a sua qualidade e detectar actos fraudulentos,

é possível verificar se a pasta de azeite mantém as características químicas do azeite usado como matéria-prima nesta nova tecnologia de texturização.

Para além deste objectivo principal, tornou-se importante comparar diferentes temperaturas de conservação da pasta, no frigorífico e à temperatura ambiente, e ainda, fazer uma avaliação preliminar da aceitação deste novo produto por parte do consumidor.

2. AZEITE

Segundo o Conselho Oleícola Internacional (COI, 2008), o azeite consiste no óleo obtido unicamente a partir do fruto da oliveira (*Olea europaea* L.), com exclusão dos óleos obtidos através do uso de solventes ou de processos de reesterificação e de qualquer mistura com óleos de outra natureza.

Quando o azeite é processado a partir de frutos maduros, frescos e de boa qualidade, o seu aroma é incomparável e delicado. É o único de todos os óleos vegetais que pode ser consumido no estado virgem, sem qualquer processo de refinação, conservando assim todas as suas vitaminas e outros constituintes naturais importantes (Kiritsakis, 1993).

O azeite virgem é um produto natural que conserva inalterados os componentes e propriedades químicas, biológicas e organolépticas da azeitona enquanto fruto (March & Ríos, 1989).

Além das características intrínsecas de qualidade, o azeite apresenta também características de genuinidade que permitem distingui-lo dos restantes óleos e gorduras (Gouveia, 1995). Uma quantidade considerável de projectos de investigação tem tido como objectivo assegurar a sua pureza, autenticidade e qualidade. Muitas técnicas novas, tais como espectrofotometria no ultravioleta, GPC (cromatografia de permeação de gel), HPLC (cromatografia líquida de alta resolução), e análise enzimática, foram testadas pela primeira vez no azeite (Uzzan, 1996).

2.1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA

A composição exacta do azeite depende de factores agronómicos, tais como rega, fertilização, poda, práticas de protecção e produção integrada, colheita, transporte e armazenamento da azeitona, de factores geográficos e climáticos, da variedade e do estado de maturação da azeitona, de factores relacionados com a extracção, como o método usado e o tipo de equipamentos, e das condições de armazenamento e transporte do azeite.

Quimicamente, o azeite é constituído por duas fracções: uma saponificável e outra insaponificável (Gouveia, 1995).

2.1.1. Fracção saponificável

A fracção saponificável, insolúvel em água, é constituída pelos componentes de concentração mais elevada no azeite, como os triacilgliceróis e os ácidos gordos, e também por alguns componentes menores, como, por exemplo, os fosfolípidos (Gouveia, 1995).

2.1.1.1. Ácidos gordos e triacilgliceróis

Os ácidos gordos são moléculas cuja estrutura apresenta uma cadeia alquílica, saturada ou insaturada, ligada a um grupo carboxílico. Nos óleos e gorduras naturais essa cadeia é, genericamente, linear e, no caso dos ácidos gordos insaturados, apresenta-se na forma *cis*.

Trabalhos de investigação, sobretudo de cromatografia gasosa, têm demonstrado que os ácidos gordos presentes no azeite são o ácido mirístico (C14:0), o palmítico (C16:0), o palmitoleico (C16:1), o heptadecanóico (C17:0), o esteárico (C18:0), o oleico ou *cis*-9-octadecenoico (C18:1), o linoleico (C18:2), o linolénico (C18:3), o araquídico (C20:0), o eicosenóico (C20:1), o behénico (C22:0) e o lignocérico (C24:0) (Boskou, 1998). Os limites estabelecidos pelo Conselho Oleícola Internacional para cada um destes ácidos gordos estão indicados no Quadro I.

A composição qualitativa, em ácidos gordos, dos diversos azeites mantém-se constante, apenas variando a percentagem entre eles, devido a factores como a variedade, a localização geográfica, a altitude, as condições climáticas, o período de colheita, etc. (Gouveia, 1995).

Como já foi referido, na natureza, os ácidos gordos insaturados das gorduras vegetais apresentam-se na forma de isómero *cis*. No entanto, é possível encontrar quantidades vestigiais dos isómeros *trans* dos ácidos oleico, linoleico e linolénico em amostras de azeite. Os azeites virgens não devem apresentar valores superiores a 0,05% de ácido transoleico e a 0,05% da soma dos ácidos translinoleico e translinolénico (COI, 2008).

QUADRO I
Limites estabelecidos para a composição em ácidos gordos do azeite (adaptado de COL, 2008)

Ácidos Gordos (AG)	Limite (% do total de AG)
Mirístico	≤ 0,05
Palmítico	7,5-20
Palmitoleico	0,3-3,5
Heptadecanóico	≤ 0,03
Esteárico	0,5-5,0
Oleico	55,0-83,0
Linoleico	3,5-21
Linolénico	≤ 1,0
Araquídico	≤ 0,6
Eicosenóico	≤ 0,4
Behénico	≤ 0,2
Lignocérico	≤ 0,2

A maioria dos ácidos gordos existentes no azeite encontra-se esterificada na forma de triacilgliceróis (Kiritsakis, 1992). Estes compostos lipídicos são formados por três ácidos gordos ligados a uma molécula de glicerol, através de reacções de esterificação (fig. 1).

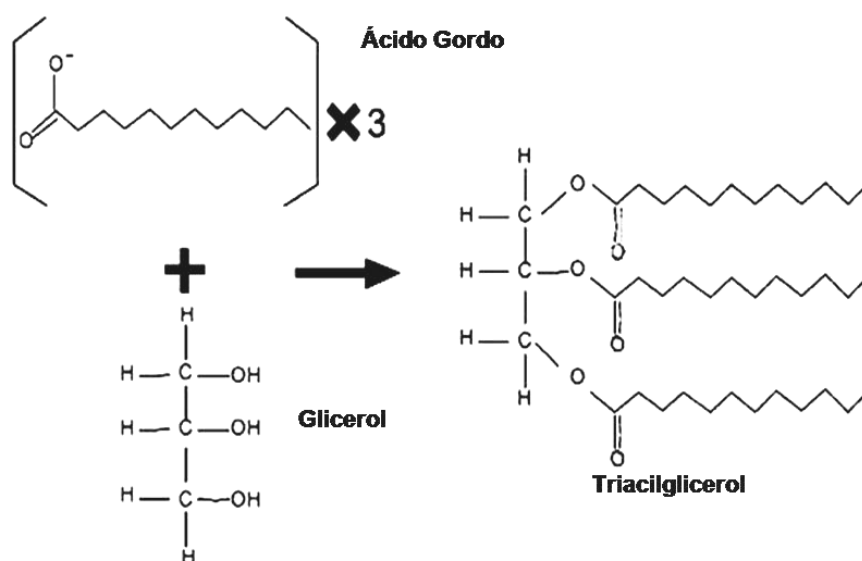


Fig. 1: Biossíntese dos triacilgliceróis (adaptado de Abumrad & Saliba, 2009)

Atendendo ao número de ácidos gordos presentes no azeite, existem inúmeras combinações possíveis para triacilgliceróis. No entanto, nem todos podem ser encontrados neste óleo vegetal, já que alguns existem em quantidades desprezáveis e outros nem sequer estão presentes (Boskou, 1998).

Os triacilgliceróis totalmente saturados, tais como PPP, S_tS_tS_t, PS_tP, S_tPS_t¹, etc., os que contêm um ácido tri-insaturado e os restantes saturados (PPLn, S_tS_tLn, PS_tLn, S_tPLn², etc.), os de 4 ligações duplas com um ácido esteárico e os de 5 e 6 ligações duplas com um esteárico ou um palmítico, e, finalmente, os triacilgliceróis tetra-insaturados com um ácido esteárico na posição 2 não são, geralmente, encontrados no azeite (Boskou, 1998).

Entre as restantes combinações possíveis, encontram-se, em quantidades significativas, os seguintes triacilgliceróis: OOO (40-59%), POO (12-20%), OOL (12,5-20%), POL (5,5-7%) e S_tOO (3-7%)³. Os principais ácidos gordos insaturados, oleico e linoleico, estão esterificados, em grande parte, na posição 2 (Boskou, 1998).

Existe uma menor percentagem de ácidos gordos que se encontram na forma livre, provenientes de reacções de hidrólise dos triacilgliceróis, sendo responsáveis pelo grau de acidez livre do azeite. Más condições de armazenamento da azeitona, por exemplo, podem resultar num aumento considerável da acidez livre do azeite, em detrimento da sua qualidade (Kiritsakis & Markakis, 1987).

2.1.1.2. Mono e diacilgliceróis

A presença de mono e diacilgliceróis no azeite está relacionada não apenas com a biossíntese incompleta de triacilgliceróis (fig. 1), mas principalmente, com a ocorrência de reacções de hidrólise (Kiritsakis & Christie, 2000).

No azeite virgem, a concentração de diacilgliceróis varia entre 1 e 2,8%, e os monoacilgliceróis estão presentes em teores menores que 0,25% (Boskou, 1998).

¹ Onde P corresponde ao ácido palmítico e S_t ao ácido esteárico.

² Onde Ln corresponde ao ácido linolénico.

³ Onde O corresponde ao ácido oleico e L ao ácido linoleico.

2.1.1.3. Fosfolípidos

Fosfolípido é o termo genérico que se refere a qualquer lípido que contenha um grupo fosfato, incluindo os fosfoacilgliceróis.

O conteúdo em fosfolípidos do azeite é baixo, entre 50 e 150 mg/kg de azeite (Uzzan, 1996). Já foram encontrados os seguintes compostos: fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidi-linose e fosfatidilserina (Kiritsakis, 1992).

2.1.2. Fracção insaponificável

A fracção insaponificável, solúvel em água, encontra-se numa concentração muito menor no azeite, representando, no azeite virgem, entre 0,5 e 1,5% do total (Kiritsakis, 1992). No entanto, esta fracção é a principal responsável pelo valor biológico e nutricional do azeite, pelas características organolépticas e, ainda, pela sua resistência à oxidação (Gouveia, 1995).

A composição da fracção insaponificável inclui a maioria dos constituintes menores do azeite, tais como, hidrocarbonetos, tocoferóis, esteróis, álcoois gordos, ceras, compostos fenólicos, compostos voláteis e pigmentos.

Algumas classes de constituintes menores apenas estão presentes no azeite virgem, sendo eliminadas durante o processo de refinação. É o caso, por exemplo, dos fosfatídeos e dos compostos fenólicos. Para além disso, a refinação provoca ainda alterações quantitativas e qualitativas importantes noutras classes de compostos químicos (Boskou, 1998).

2.1.2.1. Hidrocarbonetos

No azeite, os hidrocarbonetos, lineares e ramificados, saturados e insaturados, formam-se, provavelmente, como produtos colaterais, durante a síntese dos ácidos gordos (Gouveia, 1995; Perrin, 1992; Fedeli, 1983). Compreendem o esqualeno, numa concentração que varia entre 1250 e 7500 mg/kg de azeite (Ramírez-Tortosa *et al.*, 2006), e o β -caroteno, com teores variáveis entre 0,3 e 3,6 mg/kg de azeite (Kiritsakis, 1992). Outros hidrocarbonetos, tais como parafinas, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e de cadeia ramificada, podem

ser encontrados no azeite em quantidades menores (Boskou, 1998).

Para além de ser o hidrocarboneto predominante no azeite, o esqualeno é também o principal constituinte da sua fracção insaponificável, representando até 40% da sua massa total (Boskou, 1998). Quimicamente, trata-se de um triterpeno linear do qual derivam os esteróis animais e vegetais (Chesworth *et al.*, 1998). A sua estrutura química encontra-se representada na figura 2.

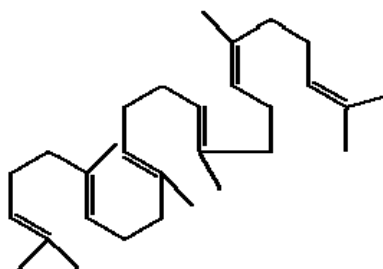


Fig. 2: Estrutura química do esqualeno (adaptado de Boskou, 1998)

O β -caroteno é um pigmento carotenóide antioxidante, sendo ainda um precursor da vitamina A (Hoffmann, 1989), contribuindo assim para a cor do azeite, para o seu elevado valor nutricional, bem como para a sua estabilidade oxidativa.

2.1.2.2. Compostos esterólicos e terpénicos

A composição da fracção esterólica é de certa forma um dos elementos do “bilhete de identidade” de qualquer gordura ou óleo, sendo uma característica da espécie botânica menos sujeita a variações entre uma variedade e outra do que, por exemplo, a composição em ácidos gordos (Pioch, *et al.*, 1991).

Os esteróis são álcoois gordos, cíclicos e neutros, com estrutura cristalina e alto ponto de fusão. Classificam-se como esteróides, têm carácter lipofílico e possuem um grupo hidróxido em C₃. A sua molécula é composta por um núcleo tetracíclico – o ciclo pentanoperhidrofenantreno – ao qual estão ligadas, na posição 17, pequenas ou grandes cadeias laterais (CL), tal como o representado na figura 3 (Gouveia, 1995; Correia & Correia, 1985). A estrutura cíclica é constituída por três anéis benzénicos (A, B, e C) e um anel penténico (D). Entre os anéis D e C pode existir uma função metilo, assim como ao nível dos carbonos 10 e 13 também podem existir grupos metilo (Correia & Correia, 1985).

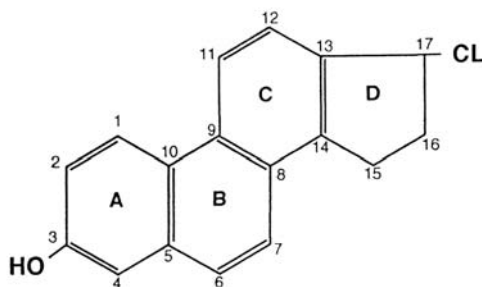


Fig. 3: Núcleo tetracíclico dos esteróis (adaptado de Correia & Correia, 1985)

Os esteróis são sintetizados a partir do esqualeno. As várias fases da sua síntese, que ocorre no citoplasma das células da azeitona, envolvem diversos intermediários terpênicos (Chesworth *et al.*, 1998).

Na figura 4 está representado um esquema sucinto da biossíntese dos compostos terpênicos e esterólicos. Do esqualeno derivam, por ciclização, as amirinas, que, por sua vez, dão origem a álcoois bifuncionais, o eritrodiol e o uvaol. A ciclização do esqualeno conduz também à formação de álcoois triterpênicos tetracíclicos, o cicloartenol e o 24-metileno-cicloartenol, cujas transformações sucessivas, essencialmente reacções de dimetilação, conduzem aos esteróis, através de compostos intermediários, os 4 α -metilesteróis (Fedeli, 1983).

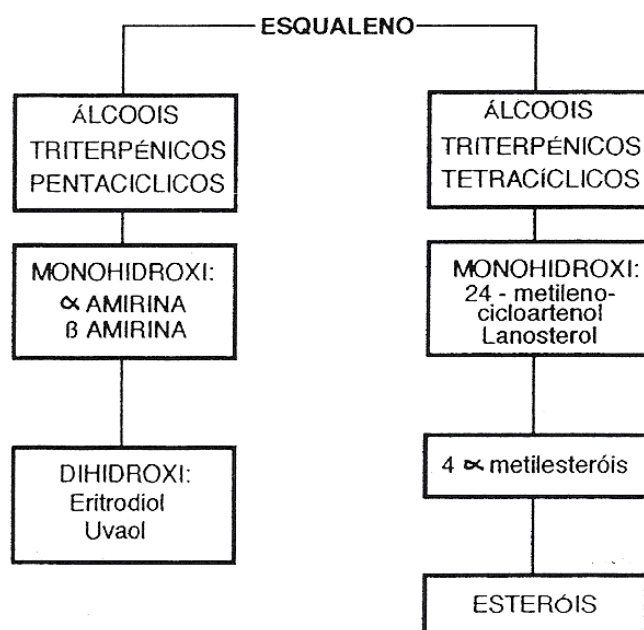


Fig. 4: Origem dos compostos de natureza terpénica e esterólica (adaptado de Fedeli, 1983)

Os esteróis são constituintes da fracção insaponificável essenciais para a asserção da qualidade e genuinidade do azeite. Podem estar presentes na sua forma livre ou esterificados com ácidos gordos. As formas esterificadas representam cerca de 10 a 15% dos esteróis totais, cujo valor normal no azeite varia entre 1000 a 2200 mg/kg azeite (Grob *et al.*, 1990).

A composição esterólica no azeite é influenciada pelo período de armazenamento das azeitonas e pelo seu tratamento. Estudos indicam que um longo armazenamento pode conduzir a um aumento significativo do teor de esteróis totais, acompanhado por um aumento da percentagem de estigmasterol e uma redução do teor de Δ -5-avenasterol. Ocorre ainda uma diminuição considerável no teor de esteróis totais durante o processo de refinação do azeite (Boskou, 1998).

Os principais esteróis presentes no azeite são o β -sitosterol, o Δ -5-avenasterol, o campesterol e o estigmasterol, podendo ser encontradas quantidades infinitamente menores de colesterol, campestanol, Δ -7-campestenol, clerosterol, Δ -5,24-estigmastadienol, Δ -7-estigmastenol, e Δ -7-avenasterol (Ryan *et al.*, 1998).

O componente predominante é, incomparavelmente, o β -sitosterol, representando entre 70 e 90% da fracção total de esteróis (Ryan *et al.*, 1998).

Segundo o Conselho Oleícola Internacional (COI), o conteúdo total de esteróis deve ser superior a 1000 mg/kg de azeite. Dentro desta fracção cada componente deverá existir dentro dos limites estabelecidos pelo COI, indicados no quadro II.

QUADRO II
Limites estabelecidos para a composição em esteróis do azeite
(adaptado de COI, 2008)

<i>Esteróis</i>	<i>Limites</i> (% do total de esteróis)
Colesterol	≤ 0,5
Brassicasterol	≤ 0,1*
Campesterol	≤ 4,0
Estigmaesterol	<Campesterol
Δ-7-estigmastenol	≤ 0,5
β-sitosterol + Δ-5-avenasterol + Δ-5,23-estigmastadienol + Clerosterol + Sitostanol + Δ-5,24-estigmastadienol	≥ 93,0

* O limite aumenta para 0,2% no caso dos óleos de bagaço de azeitona.

Intermediários da biossíntese dos esteróis também podem estar presentes no azeite. Já foram encontrados 4 α -metilesteróis, tais como o gramisterol, o obtusifoliol, o cicloeucaleanol e o citrostadienol, e álcoois triterpênicos (4,4-dimetilesteróis), tais como o α e o β -amirina (Kiritsakis & Christie, 2000).

Os principais álcoois bifuncionais triterpênicos existentes no azeite são o eritrodíol e o uvaol (Boskou, 1998). Os seus teores também estão regulamentados, não podendo a soma dos dois ultrapassar os 4,5% do total de esteróis (COI, 2008).

2.1.2.3. Álcoois alifáticos e ceras

Álcoois alifáticos com 22 a 28 átomos de carbono estão presentes no azeite em quantidades muito pequenas (Gouveia, 1995). Os álcoois primários de cadeia longa podem derivar dos ácidos gordos por conversão do grupo carboxilo (COOH) a hidroximetilo (CH₂OH). Álcoois até 22 átomos de carbono são chamados álcoois gordos e os de cadeia mais longa são chamados álcoois cerosos (Hoffmann, 1989).

Os principais álcoois alifáticos lineares presentes no azeite são o hexacosanol, o octacosanol e o tetracosanol. Também o tricosanol, o pentacosanol e o heptacosanol podem ser encontrados em quantidades vestigiais (Kiritsakis & Christie, 2000).

Estudos demonstram que o teor de álcoois alifáticos no azeite pode variar entre 100 a 700 mg/kg de azeite, enquanto no óleo de bagaço de azeitona o valor pode chegar aos 2240 a 4340 mg/kg de azeite (Kiritsakis & Christie, 2000).

As ceras são ésteres de álcoois de longa cadeia alifática com ácidos gordos, que se encontram nos óleos vegetais como meros contaminantes, provenientes dos tegumentos das sementes e dos epicarpos dos frutos (Hoffmann, 1989). As principais ceras detectadas no azeite são ésteres C-36, C-38, C-40, C-42, C-44 e C-46 (Boskou, 1998; Kiritsakis & Christie, 2000).

O teor de ceras no azeite é, normalmente, muito baixo, tendo um limite máximo estabelecido de 350 mg/kg de azeite (COI, 2008).

2.1.2.4. Compostos fenólicos

De uma forma geral, pode dizer-se que o azeite é praticamente o único óleo vegetal com quantidades apreciáveis de compostos fenólicos naturais, que lhe conferem o gosto amargo e frutado e que contribuem, em grande parte, para a sua resistência à auto-oxidação (Perrin, 1992).

A composição fenólica do azeite é muito complexa e nem todos os seus componentes estão identificados (Calabrese, 2002). No entanto, numerosos antioxidantes fenólicos, simples e complexos, têm sido identificados na fracção polar de azeites virgem extra (Nissiotis & Tasioula-Margari, 2002). No caso dos azeites refinados, o seu teor fenólico não é significativo (Tripoli *et al.*, 2005).

As técnicas utilizadas nos processos de trituração da azeitona e de extracção do azeite provocam a eliminação de grande parte dos fenóis existentes no fruto (os de maior polaridade e pouco solúveis em óleo), e ainda promovem a activação de enzimas responsáveis pela hidrólise dos fenóis complexos (Calabrese, 2002).

Os três compostos fenólicos com a concentração mais elevada no azeite são a oleuropeína, o hidroxitirosol (3,4-dihidroxifenil etanol) e o tirosol (Tuck & Hayball, 2002). Estes compostos estão representados na figura 5.

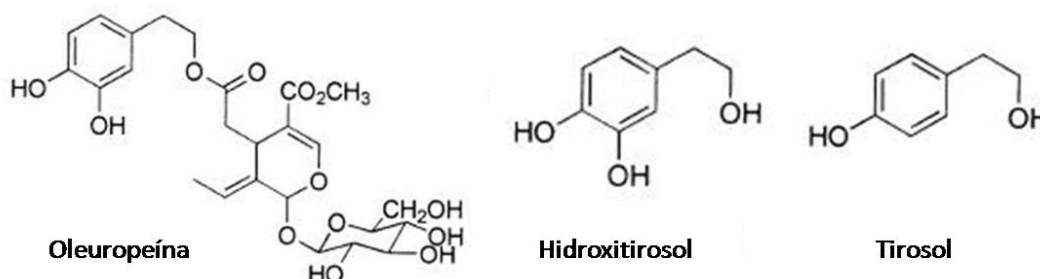


Fig. 5: Principais compostos fenólicos do azeite
(adaptado de Tuck & Hayball, 2002)

A oleuropeína é o principal composto fenólico da azeitona (Tuck & Hayball, 2002), sendo responsável pelo amargo das azeitonas verdes (Boskou, 1998). Quimicamente, trata-se de um glucósido do ácido elenólico, esterificado pelo hidroxitirosol (Perrin, 1992).

Ao longo da maturação do fruto, ou durante a produção do azeite, dão-se reacções de oxidação e de hidrólise dos compostos fenólicos mais complexos, como a oleuropeína. Como tal, as substâncias fenólicas encontradas no azeite serão diferentes das que constituem o fruto. A oleuropeína, por exemplo, liberta hidroxitirosol (Perrin, 1992).

Outros compostos fenólicos que, frequentemente, se encontram no azeite são os ácidos cafeico, vanílico, sirínico, p-cumárico, o-cumárico, protocatéquico, sinápico, p-hidroxibenzóico, p-hidroxifenilacético e homovanílico (Boskou, 1998).

2.1.2.5. Tocoferóis

Os tocoferóis são compostos fenólicos lipofílicos de origem vegetal (Hensley *et al.*, 2003), e têm um papel biológico benéfico como antioxidantes (Boskou, 1998).

Todos os tipos de tocoferóis, representados na figura 6, estão presentes no azeite. O mais abundante é o α -tocoferol, que constitui cerca de 95% do total de tocoferóis (Perrin, 1992). O α -tocoferol é também o que tem maior actividade vitamínica E (Hoffmann, 1989).

A composição em tocoferóis depende muito da variedade da azeitona e do período de colheita, alcançando o seu teor máximo durante o primeiro período de colheita (Ryan *et al.*, 1998). A concentração de tocoferóis no azeite oscila entre 5 e 300 mg/kg de azeite (Perrin, 1992) e, de um modo geral, nos azeites de boa qualidade o valor supera os 100 mg/kg de azeite (Speek *et al.*, 1985).

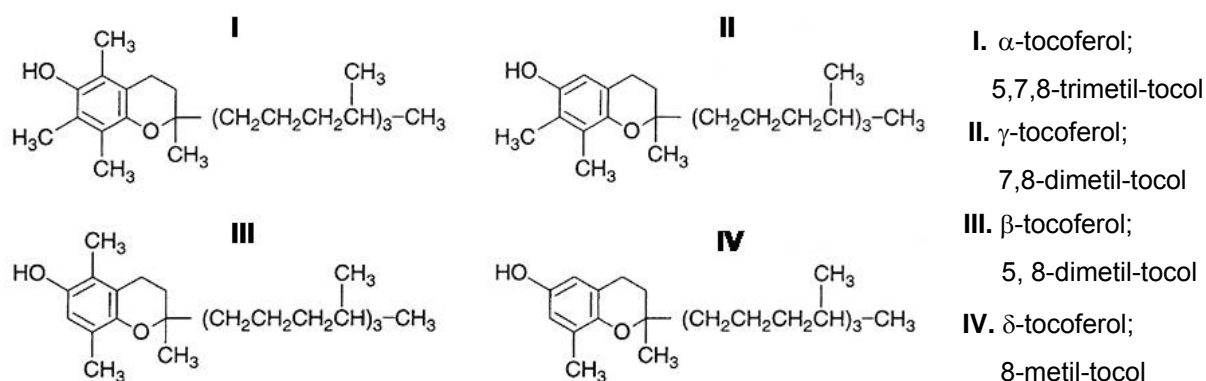


Fig. 6: Estruturas químicas dos tocoferóis presentes no azeite
(adaptado de Boskou, 1998)

2.1.2.6. Compostos voláteis

Os compostos voláteis do azeite, que contribuem para o seu cheiro e o seu *flavour* únicos, desenvolvem-se durante e após a extracção (Kalua, *et al.*, 2007). A sua formação dá-se, essencialmente, nos cloroplastos, durante a moenda da azeitona (Gouveia, 1995). Estes compostos tornam-se menos dominantes durante o armazenamento do azeite, surgindo novos compostos voláteis resultantes de reacções de oxidação (Kalua, *et al.*, 2007).

De uma forma geral, a composição volátil do azeite é influenciada por factores geográficos, pela variedade da azeitona e o seu grau de maturação aquando da colheita, e pelo método e condições de processamento do azeite (Kalua, *et al.*, 2007).

Os compostos voláteis presentes no azeite já foram extensamente estudados por vários investigadores, tendo sido identificados mais de 100, entre eles hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, ésteres, fenóis e seus derivados, terpenos oxidados e derivados do furano (Boskou, 1998). Os principais compostos voláteis identificados no azeite são os de 5 e 6 átomos de carbono (Kalua, *et al.*, 2007).

Os compostos voláteis não contribuem de forma equitativa para o cheiro do azeite, e os de concentração mais elevada não são necessariamente os que contribuem mais para esta característica (Baccouri *et al.*, 2008).

2.1.2.7. Pigmentos

O azeite virgem tem uma cor que vai desde o verde-amarelado até ao dourado, dependendo da variedade e do estado de maturação da azeitona. A cor do azeite, um dos atributos básicos para avaliar a sua qualidade, é determinada pelos pigmentos existentes na sua composição. O azeite contém dois tipos de pigmentos: as clorofilas e os carotenóides (Boskou, 1998).

Da classe das clorofilas estão presentes no azeite as clorofilas a e b, responsáveis pela sua coloração verde. Estes pigmentos são facilmente degradados, dando lugar às feofitinas a e b (Kiritsakis *et al.*, 2001).

A fracção clorofilina, que representa entre 1 a 10 mg/kg de azeite, é constituída por 20 a 40% de feofitina a (Uzzan, 1996). O processo de extracção do azeite influencia o conteúdo clorofilino do mesmo, promovendo a transformação das clorofilas em feofitinas (Giuffrida *et al.*, 2007).

A fracção carotenóide representa entre 5 a 10 mg/kg de azeite, sendo constituída por 30 a 60% de luteína, 5 a 15% de β -caroteno e diversas xantofilas (Uzzan, 1996). À medida que avança o período de colheita a luteína torna-se no pigmento principal da azeitona, devido à redução considerável do teor de clorofilas (Boskou, 1998).

Os pigmentos também estão envolvidos em mecanismos de auto-oxidação e foto-oxidação (Boskou, 1998). Tanto as clorofilas como os carotenóides têm natureza antioxidante no escuro e pro-oxidante à luz (Giuffrida *et al.*, 2007; Ryan, *et al.*, 1998).

2.2. QUALIDADE DO AZEITE

De um modo geral, a qualidade de um produto é representada pelo conjunto de características próprias que permite apreciá-lo como igual, melhor ou pior que os restantes da sua espécie (Granados, 2000).

No caso específico do azeite, foram estabelecidas normas comerciais e alimentares que garantem ao consumidor um produto de qualidade (Gouveia, 1995).

2.2.1. Parâmetros de qualidade

A qualidade do azeite é avaliada na base de quatro parâmetros: grau de acidez, índice de peróxidos, absorvência no ultravioleta e análise sensorial.

O grau de acidez é a medida da quantidade de ácidos gordos livres, expressa em ácido oleico. Trata-se de um parâmetro negativo, pois a partir de certos limites (até 2%), o azeite deixa de ser apto para consumo imediato e tem de ser refinado (Granados, 2000).

O índice de peróxidos (IP) mede o estado de oxidação inicial do azeite e, também, indica a deterioração que podem ter sofrido certos componentes de interesse nutricional, como a vitamina E. O seu limite de consumo corresponde a 20 meq O₂/kg de azeite (Granados, 2000).

A absorvência no ultravioleta utiliza-se em especial para detectar os compostos oxidados anormais num azeite virgem (Granados, 2000).

Os valores dos coeficientes específicos K₂₇₀, K₂₃₂ e ΔK são utilizados para avaliar a autenticidade e a qualidade do azeite, sendo o K₂₇₀ o coeficiente de extinção específica a 270 nm, o K₂₃₂ o coeficiente de extinção específica a 232 nm e o ΔK determinado da seguinte forma (Kiritsakis, 1992; Boskou, 1998):

$$\Delta K = K_m - \frac{K_{m-4} + K_{m+4}}{2}$$

Onde K_m corresponde ao coeficiente de extinção específica ao comprimento de onda m, sendo o comprimento de onda para absorção máxima por volta de 270 nm (Boskou, 1998).

Os hidroperóxidos conjugados absorvem a 232 nm, enquanto os produtos da oxidação secundária (aldeídos e cetonas), absorvem a outros comprimentos de onda (262, 268, 270 e 274 nm). Os dienos e trienos conjugados, formados durante o processo de refinação,

também absorvem a 270 nm. Portanto, valores baixos destes coeficientes específicos correspondem a um azeite de boa qualidade (Kiritsakis, 1992).

As características organolépticas constituem o conjunto de sensações que são detectadas pelos sentidos, ou seja, cheiro, sabor, aspecto e cor. Os principais atributos olfativo-gustativos do azeite são o frutado de azeitona ou de outros frutos maduros, o verde de folha ou erva, o amargo, o picante e o doce. O aspecto está relacionado com a limpidez, à temperatura ambiente normal, e com a presença ou não de depósitos. Finalmente, a cor é condicionada, como já foi referido, pelo conteúdo em pigmentos (Gouveia, 1995). Este parâmetro de qualidade tem como medida a ausência de defeitos (Boskou, 1998) e é determinado através da análise sensorial do azeite (Granados, 2000).

2.2.2. Classificação do azeite

O Regulamento (CE) nº 865/2004 define as seguintes classes:

- Azeites virgens;
- Azeite refinado;
- Azeite – composto por azeite refinado e azeite virgem;
- Óleo de bagaço de azeitona bruto;
- Óleo de bagaço de azeitona refinado;
- Óleo de bagaço de azeitona.

Os azeites virgens são os que apresentam os limites mais restritivos em termos dos parâmetros de qualidade. São definidos, de acordo como o regulamento, como azeites obtidos a partir do fruto da oliveira unicamente por processos mecânicos ou outros processos físicos, em condições que não alterem o azeite, e que não tenham sofrido outros tratamentos além da lavagem, da decantação, da centrifugação e da filtração, com exclusão dos azeites obtidos com solventes, com adjuvantes de acção química ou bioquímica ou por processos de reesterificação e qualquer mistura com óleos de outra natureza. Esta classificação inclui o azeite virgem extra, o azeite virgem e o azeite lampante, onde o azeite virgem extra é o de melhor qualidade, seguido do virgem e, por fim, do lampante.

2.2.3. Factores que afectam a qualidade do azeite

As características do azeite começam a ser traçadas ainda na oliveira. Factores agronómicos, tais como a variedade da azeitona, as práticas culturais utilizadas, o solo e o clima, contribuem para as características naturais que diferenciam os vários azeites (Gouveia, 1995; Kiritsakis, 1992).

Desde o período de formação do azeite na azeitona até à sua colheita, insectos, microrganismos e outros agentes ambientais, em conjunto com a acção de enzimas lipolíticas, podem afectar a qualidade do azeite, promovendo processos de deterioração (Kiritsakis, 1992).

A partir do momento em que termina a síntese do azeite nos frutos, este não ganha mais qualidade. Pelo contrário, acumulam-se outras características resultantes de fenómenos de degradação que ocorrem antes, durante e após o processamento. Factores relacionados com a colheita, como o procedimento usado e o estado físico e de maturação do fruto, as condições de armazenamento da azeitona, os métodos e equipamentos usados na preparação e moenda da azeitona e na extracção do azeite, as medidas higiénicas e sanitárias adoptadas ao longo de todo o processo e ainda, as condições a que o produto é sujeito desde o final da extracção até ao consumidor final, contribuem para as características adquiridas do azeite (Gouveia, 1995; Kiritsakis, 1992).

2.2.4. Processos de deterioração

Os principais processos que conduzem à deterioração da qualidade do azeite são a lipólise e a oxidação. A lipólise geralmente começa ainda dentro do fruto, enquanto a oxidação ocorre depois da extracção e, principalmente, durante o armazenamento (Kiritsakis, 1992). Ambos os processos afectam a composição e as características sensoriais do azeite (Kochhar, 1993).

2.2.4.1. Lipólise

A lipólise consiste na reacção de hidrólise dos triacilgliceróis, sendo assim responsável pelo aumento do grau de acidez do azeite (Kiritsakis, 1992; Gouveia, 1995). Apesar desta consequência, a reacção não tem um impacto directo sobre o carácter nutricional do azeite,

uma vez que as gorduras são hidrolisadas enzimaticamente no intestino delgado antes de serem absorvidas pelo organismo (Morales & Przybylski, 2000). Podem, no entanto, conduzir a reacções de deterioração mais sérias através da libertação de ácidos gordos insaturados, que se tornam disponíveis para reacções de oxidação (Kiritsakis, 1992).

Entre os principais factores que promovem as reacções de hidrólise estão a humidade e a temperatura. A lipólise microbiana é promovida pelos microrganismos, presentes nas azeitonas, que têm actividade lipolítica. Já a lipólise enzimática é conduzida pelas enzimas naturais (lipases) que se encontram nas azeitonas (Kiritsakis, 1992).

2.2.4.2. Oxidação

O azeite oxida-se ao entrar em contacto com o oxigénio. Diversos factores, tais como luz, temperatura, enzimas, metais, metalo-proteínas, pigmentos e microrganismos, podem acelerar a oxidação lipídica (Morales & Przybylski, 2000). Os produtos que resultam da oxidação têm cheiro e sabor desagradáveis e podem afectar o valor nutritivo do azeite. Certos ácidos gordos polinsaturados essenciais, tais como o linoleico e o linolénico, são destruídos e também desaparecem algumas vitaminas lipossolúveis (Kiritsakis, 1992; Morales & Przybylski, 2000).

O processo de deterioração oxidativa pode seguir vias enzimáticas e/ou químicas. As reacções de oxidação podem ocorrer no azeite, quer na ausência de luz (auto-oxidação), quer na sua presença (foto-oxidação) (Morales & Przybylski, 2000).

O azeite é, de certo modo, resistente à oxidação (auto-oxidação), devido ao seu baixo teor em ácidos gordos polinsaturados e à presença de antioxidantes naturais, tais como tocoferóis e compostos fenólicos. No entanto, é muito sensível à foto-oxidação (Kiritsakis, 1992).

2.2.4.2.1. Oxidação enzimática

De um modo geral, uma série de diferentes acções enzimáticas, representadas na figura 7, são necessárias para decompor ácidos gordos polinsaturados (Morales & Przybylski, 2000).

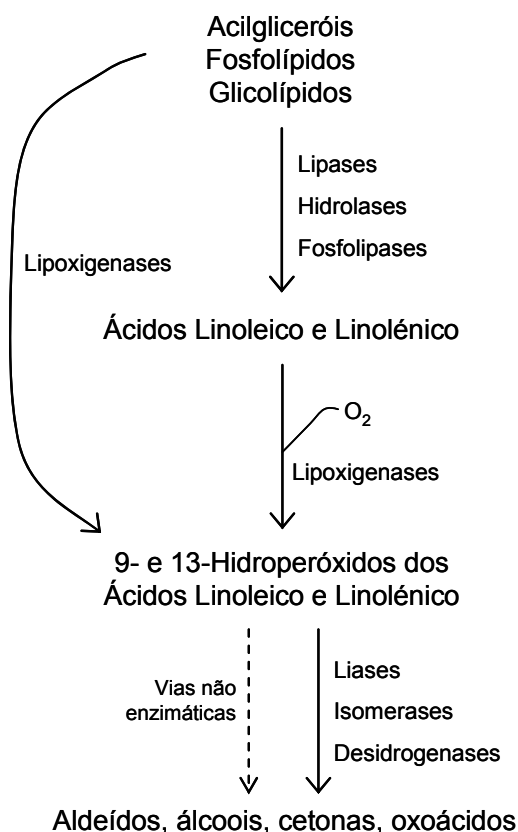


Fig. 7: Oxidação enzimática de ácidos gordos polinsaturados
(adaptado de Morales & Przybylski, 2000)

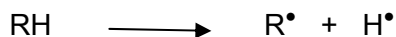
A sequência inicia-se com a hidrólise de diversos acilgliceróis, catalisada por lipases, acil-hidrolases lipolíticas e fosfolipases, libertando-se assim os ácidos gordos polinsaturados. Em seguida, lipoxigenases convertem os ácidos gordos insaturados em hidroperóxidos. Numa última fase, liases, isomerases e desidrogenases transformam os hidroperóxidos em diversos compostos voláteis e não voláteis (Morales & Przybylski, 2000).

No caso particular do azeite virgem, esta via enzimática é responsável tanto pela criação de *off-flavours*, como pela formação dos compostos de *flavour* desejados (Morales & Przybylski, 2000).

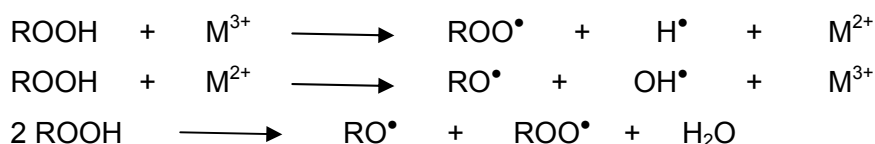
2.2.4.2.2. Auto-oxidação

O mecanismo de auto-oxidação realiza-se em três etapas: iniciação, propagação e finalização (Hamilton, 2003; Kochhar, 1993; Kiritsakis & Markakis, 1987).

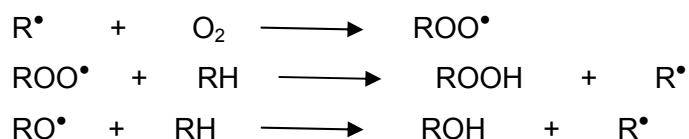
A etapa de iniciação pode surgir através da perda de um radical hidrogénio (H^\bullet) no carbono α de ácidos gordos insaturados (RH), numa reacção catalisada por metais, aquecimento ou luz (Kochhar, 1993), esquematizada em seguida:



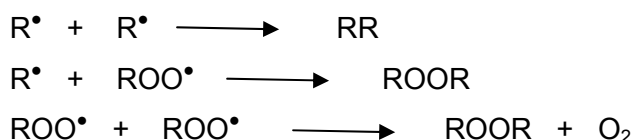
Pode ocorrer ainda, na etapa de iniciação, a formação de radicais livres (RO^\bullet , ROO^\bullet), resultante da termo ou da foto-decomposição de hidroperóxidos por metais, presentes em quantidades vestigiais, ou por irradiação ultravioleta, conforme as seguintes reacções (Kochhar, 1993):



Na etapa de propagação, os radicais livres dos ácidos gordos (R^\bullet) reagem com oxigénio molecular para formar radicais livres de peróxidos (ROO^\bullet). Estes, por sua vez, reagem com novos ácidos gordos para produzir hidroperóxidos e mais radicais livres, desencadeando o mecanismo de propagação, representado nas seguintes equações (Kiritsakis & Markakis, 1987):



Esta cadeia de reacções prossegue até se esgotarem os ácidos gordos insaturados ou até os radicais livres se inactivarem uns aos outros (Kiritsakis & Markakis, 1987). A última situação consiste na etapa de finalização, esquematizada nas seguintes reacções (Kiritsakis, 1992):



Por norma, estas reacções não continuam até ao consumo total do substrato gordo. Há, normalmente, um esgotamento prévio do oxigénio, uma vez que a sua transferência é

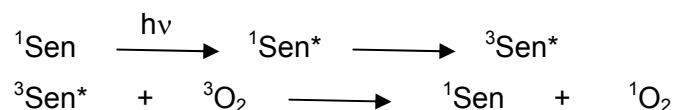
inibida pela presença de uma película que se forma à superfície do óleo ou gordura, no decorrer da reacção (Hoffmann, 1989).

Os processos de oxidação alternativos, a foto-oxidação e a oxidação enzimática, também podem alimentar estas reacções de auto-oxidação (Hamilton, 2003).

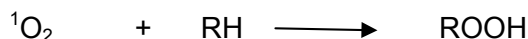
2.2.4.2.3. Foto-oxidação

Na presença de oxigénio molecular e de fotossensibilizadores, a exposição à luz também pode conduzir à formação de hidroperóxidos nos óleos (Morales & Przybylski, 2000). Este processo de fotossensibilização actua, essencialmente, através da produção de oxigénio no estado singleto ($^1\text{O}_2$), promovida por fotossensibilizadores como as clorofilas e as feofitinas (Nawar, 1997).

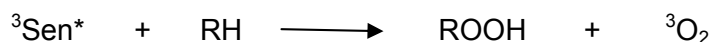
Os pigmentos clorofilinos do azeite absorvem energia ($h\nu$) na forma de fotão luminoso, passando de um estado singleto fundamental (^1Sen) a um estado singleto excitado ($^1\text{Sen}^*$) e, em seguida, por transição electrónica, a um estado tripleto excitado ($^3\text{Sen}^*$). A energia de excitação do fotossensibilizador é então transferida para o oxigénio no estado fundamental ($^3\text{O}_2$), dissolvido no óleo, produzindo o oxigénio singleto ($^1\text{O}_2$) (Gouveia, 1995). As reacções descritas estão representadas nas seguintes equações:



O oxigénio singleto reage muito mais depressa do que o oxigénio molecular nas áreas com uma elevada densidade de electrões, como acontece nos locais de insaturação nas moléculas de ácidos gordos (RH) (Nawar, 1997). A reacção decorre conforme a equação seguinte:



A forma excitada do fotossensibilizador também pode reagir directamente com o ácido gordo insaturado (Morales & Przybylski, 2000):



A formação de hidroperóxidos por oxigénios singlete processa-se por mecanismos diferentes aos dos radicais livres, mas uma vez formados, estes hidroperóxidos podem seguir as vias de auto-oxidação já referidas (Nawar, 1997).

É importante distinguir a foto-oxidação da auto-oxidação fotolítica, que pode ser iniciada por reacções de decomposição de peróxidos e de hidroperóxidos já existentes no azeite, por acção de irradiação ultravioleta (Frankel, 1986).

2.3. BENEFÍCIOS PARA A SAÚDE

O azeite é um ingrediente essencial na dieta dos países que envolvem a bacia mediterrânica, representando a principal fonte de gordura na cozinha destes países. No entanto, nos últimos anos, o azeite tem ganho o interesse dos consumidores do norte da Europa, dos Estados Unidos, da Austrália e de outros países. O crescente entusiasmo à volta da dieta mediterrânica e do azeite é devido, essencialmente, ao papel positivo, que se associa a esta dieta, na prevenção de certas doenças (Boskou, 2007).

Apesar de ser usado na culinária desde há séculos, o azeite tem sido, mais recentemente, alvo de uma intensa investigação científica com vista a determinar informação mais precisa acerca dos benefícios deste alimento para a saúde humana (Boskou, 2007).

2.3.1. Dieta mediterrânica

A dieta mediterrânica pode ser definida como um modelo de regime alimentar dado a conhecer nas áreas olivícolas da região do Mediterrâneo, entre o final dos anos 50 e início dos 60. A dieta baseava-se em oito princípios (Trichopoulou & Lagiou, 2001):

- Elevada razão lípidos monoinsaturados / saturados (promovido pelo consumo de azeite como fonte principal de gordura);
- Consumo moderado de etanol;
- Elevado consumo de cereais, incluindo pão;
- Elevado consumo de frutas;
- Elevado consumo de legumes e verduras;
- Baixo consumo de carne e de produtos cárneos;
- Consumo de proteína animal na forma de pescado;

- Consumo moderado de leite e de lacticínios.

Há que realçar que a dieta mediterrânica não passa apenas pelo controlo da alimentação, implicando também um estilo de vida fisicamente activo (Huang & Sumpio, 2008).

Desde cedo, dados estatísticos demonstraram que a taxa de mortalidade pelas doenças cardiovasculares nas regiões mediterrânicas era, em geral, mais baixa do que nos países do norte da Europa e da América (Trichopoulou *et al.*, 1999), realçando o contributo da dieta mediterrânica para o benefício da saúde humana.

O modelo inicial da dieta, que já apresentava algumas diferenças conforme o país, tem sofrido alterações ao longo do tempo. Hoje em dia, a dieta mediterrânica pode ser encarada como uma recomendação nutricional inspirada nos tradicionais padrões dietéticos da região do Mediterrâneo.

2.3.2. Mecanismos protectores do azeite

Através da investigação realizada, desde a década de 50, acerca da qualidade nutritiva e salutar do azeite, sabe-se que os benefícios que derivam do seu consumo devem-se essencialmente à sua composição em ácidos gordos, caracterizada pela elevada percentagem em ácido oleico, e à presença de antioxidantes naturais, como os tocoferóis e os compostos fenólicos.

Estudos comprovam que o ácido oleico, do tipo monoinsaturado, contribui para a diminuição do colesterol LDL⁴ e para a manutenção, ou até aumento, do colesterol HDL⁵ (Granados, 2000; Duarte 2003). O colesterol LDL, isto é, o colesterol transportado por lipoproteínas de baixa densidade, tem um papel nocivo ao aumentar o risco de desenvolvimento de placas nas artérias, contribuindo para o processo de arteriosclerose. Já o colesterol HDL, transportado por lipoproteínas de alta densidade, tem uma função protectora ao retirar das artérias fragmentos de colesterol, transportando-o para o fígado (Duarte 2003).

Por outro lado, as gorduras saturadas, cuja concentração no azeite é relativamente baixa, aumentam o colesterol LDL e diminuem o HDL. Quanto aos ácidos gordos polinsaturados,

⁴ LDL: Low-density lipoprotein.

⁵ HDL: High-density lipoprotein.

como o linoleico e o linolénico, o seu consumo diminui o LDL, mas, quando usados em grandes quantidades, podem reduzir também o HDL (Duarte 2003). Já os ácidos gordos *trans* provocam o aumento dos níveis de colesterol total no sangue e de LDL, mas reduzem os níveis de HDL (Mensink & Katan, 1989).

O azeite é considerado uma gordura ideal porque, para além de aumentar o teor de colesterol HDL, contribuindo assim para uma diminuição do risco de doenças cardiovasculares, promove também a redução dos níveis de glicémia, tendo, no entanto, as mesmas calorias que outras gorduras (March & Ríos, 1989). Estudos indicam que a introdução de gorduras monoinsaturadas, como o azeite, na dieta do diabético permite a redução da proporção de hidratos de carbono, sem aumentar, e até reduzindo, o risco de complicações cardiovasculares (March & Ríos, 1989).

As propriedades antioxidantes do azeite também parecem desempenhar um papel importante na prevenção das doenças cardiovasculares, uma vez que as modificações oxidativas das LDL, relacionadas com a oxidação dos ácidos gordos polinsaturados, constituem uma etapa fundamental no aparecimento da aterosclerose (Jacobot, 2001).

Relativamente ao aparelho digestivo, o azeite parece ser o óleo mais bem tolerado pelo estômago devido ao elevado teor em monoinsaturados. Mostra ainda efeitos benéficos nas gastrites hiperclorídicas e na úlcera gastroduodenal, aumentando a secreção alcalina no intestino delgado mas não no estômago, reduzindo as lesões, contribuindo para a cicatrização das úlceras, e oferecendo uma melhoria da hipersecreção ácida e da hipermotilidade intestinal (March & Ríos, 1989).

O azeite também ajuda a aliviar a prisão de ventre devido à falta de tonos muscular, tendo um efeito laxante que conduz à contracção da vesícula biliar e á activação dos movimentos peristálticos do intestino delgado (Kafatos & Comas, 1992). Actua favoravelmente contra a atonia da vesícula biliar e sobre a disfunção das vias biliares, aumenta o poder de desintoxicação do fígado e contribui para a melhoria da fase posterior da digestão, ao proporcionar uma acção mais eficaz da bilis na emulsão das gorduras (March & Ríos, 1989).

Relativamente à infância, sabe-se que os ácidos gordos polinsaturados, tais como o linoleico e o linolénico, são essenciais do ponto de vista metabólico para os bebés e continuam a sê-lo durante o período de crescimento das crianças (Kafatos & Comas, 1992). O azeite proporciona uma relação linoleico / linolénico semelhante à da gordura do leite materno

(March & Ríos, 1989). Além disso, o ácido oleico tem uma acção positiva no crescimento, na mineralização e no desenvolvimento dos ossos (March & Ríos, 1989).

Para o envelhecimento é também recomendado o consumo de azeite, principalmente de azeite virgem, graças ao mecanismo de defesa dos agentes antioxidantes existentes no azeite virgem (March & Ríos, 1989). Como já foi referido, os antioxidantes comportam-se como sequestradores de radicais livres. Actualmente, sabe-se que os danos causados pelos radicais livres estão relacionados com trocas celulares e extracelulares que ocorrem com o tempo no processo de envelhecimento, nas doenças crónicas e nas coronárias (Boskou, 1998).

O efeito positivo do azeite, especificamente dos seus oleatos e ácidos gordos essenciais, na mineralização dos ossos é eficaz também na idade adulta, limitando a perda de cálcio devido ao envelhecimento (March & Ríos, 1989).

O azeite reúne ainda as melhores características de digestibilidade e de poder de absorção de nutrientes, qualificando-se como uma gordura privilegiada no envelhecimento, fase em que é normal ocorrer uma redução da capacidade digestiva e de absorção de vitaminas e sais minerais. Além disso, a sua acção laxante pode ser bastante útil nesta fase da vida (March & Ríos, 1989).

A incidência de alguns tipos de cancro e a mortalidade ocasionada pelos mesmos são mais baixas nos países mediterrânicos. Vários estudos experimentais demonstram que no azeite não estão presentes os efeitos que favorecem o cancro, observados na maioria das gorduras. No entanto, é difícil afirmar que este papel favorável da dieta mediterrânica se deva ao consumo de azeite em si. Em contrapartida, está provada a influência desfavorável no aparecimento de alguns tipos de cancro de outras gorduras alimentares, em particular as saturadas e, segundo outros estudos, as polinsaturadas (Jacobot, 2001).

3. PARTE EXPERIMENTAL

Na sequência do projecto de desenvolvimento de um novo produto à base de azeite obteve-se, em laboratório, a pasta de azeite, com uma composição em azeite virgem extra de cerca de 90% e com uma textura semi-sólida, própria para barrar. Todo o processamento, bem como os auxiliares tecnológicos usados na produção da pasta de azeite, estão protegidos por uma cláusula de confidencialidade inerente ao projecto.

Uma vez encontrada a formulação ideal, que conduz a uma pasta estável à temperatura ambiente e com propriedades sensoriais semelhantes às do azeite de origem, procedeu-se à realização de diversas análises químicas ao azeite e à pasta de azeite. Estas análises foram realizadas no Laboratório de Estudos Técnicos (LET).

Nesta fase do projecto não foram realizadas repetições uma vez que o produto ainda só foi produzido à escala laboratorial. O que se pretendia era a realização de um estudo preliminar que permitisse avaliar a qualidade deste novo produto relativamente às características do azeite.

Procedeu-se ainda à realização de um inquérito ao consumidor, com prova da pasta de azeite, pretendendo-se avaliar a percepção do consumidor comum quanto à presença das características do azeite virgem na pasta, e ainda, avaliar a aceitação do novo produto no mercado.

3.1. MATERIAL

A matéria-prima em estudo neste trabalho consiste na pasta de azeite, produzida em laboratório, e no azeite virgem extra loteado (20% Picual, 15% Cobrançosa, 35% Arbequina e 30% Galega), cedido pela Fundação Eugénio de Almeida.

3.2. MÉTODOS

Amostras do azeite virgem extra e da pasta foram submetidas às seguintes determinações:

- Acidez;

- Ácidos gordos totais e isómeros *trans*;
- Triacilgliceróis;
- Esteróis totais;
- Eritrodiol + uvaol;
- Polifenóis totais;
- Tocoferóis;
- Índice de peróxido;
- Análise espectrofotométrica no ultravioleta;
- Resistência à oxidação.

Para a determinação destes parâmetros na pasta de azeite, foi necessário aquecê-la, previamente, até 60 °C (temperatura que se verificou ser o ponto de fusão da pasta).

Tanto no azeite como na pasta, foi retirada a humidade antes das análises acima referidas. Este procedimento, comum nas análises a azeites que se apresentam turvos e/ou com borras, é realizado através da adição de sulfato de sódio anidro e posterior filtração.

Na pasta de azeite foram ainda analisados os seguintes parâmetros (não tendo sido necessário, neste caso, nenhuma preparação prévia da amostra):

- Teor de água;
- Teor de gordura;
- Teor de cloretos.

As análises foram realizadas em três momentos. Primeiro, com a pasta fresca, ou seja, logo após a produção da mesma, e, depois, passado um mês e dois meses. Entre os diferentes períodos de análise, uma parte da pasta de azeite foi mantida à temperatura ambiente, a outra foi guardada no frigorífico (1-2 °C), e o azeite foi todo mantido no frigorífico. Todas as amostras foram acondicionadas ao abrigo da luz.

3.2.1. Acidez

A acidez, expressa em percentagem de ácido oleico, foi determinada pelo método descrito no anexo II do Regulamento (CEE) nº 2568/91 e nas posteriores alterações indicadas no Regulamento (CE) nº 702/2007.

Segundo os regulamentos, o método tem como princípio a dissolução da amostra numa mistura de solventes, seguida de titulação dos ácidos gordos livres presentes com uma solução etanólica de hidróxido de potássio, na presença do indicador fenolftaleína.

O resultado é dado pela seguinte equação:

$$A = \frac{V \times C \times M}{10 \times m}$$

Onde:

A é o grau de acidez, expresso em percentagem de ácido oleico;

V é o volume consumido da solução de hidróxido de potássio, expresso em mililitros;

C é a concentração exacta da solução de hidróxido de potássio utilizada, expressa em moles por mililitro;

M é a massa molar do ácido oleico, expressa em gramas por mole;

m é a massa da toma do ensaio, expressa em gramas.

Toma-se como resultado a média aritmética de duas determinações.

3.2.2. Ácidos gordos totais e isómeros *trans*

A determinação dos ácidos gordos totais e dos isómeros *trans* foi realizada de acordo com o método descrito no anexo X do Regulamento (CEE) nº 2568/91 posteriormente alterado pelo Regulamento (CE) nº 796/2002 e pelo Regulamento (CE) nº 702/2007.

Esta determinação procede-se em duas fases: a preparação dos ésteres metílicos dos ácidos gordos (anexo X_B) e a aplicação da cromatografia gasosa para determinar qualitativamente e quantitativamente a composição da mistura de ésteres metílicos dos ácidos gordos (anexo X_A).

Para a preparação dos ésteres metílicos dos ácidos gordos foi usado o método da transesterificação a frio por meio de uma solução metanólica de hidróxido de potássio.

Os resultados, expressos em percentagem dos diferentes ácidos gordos, são fornecidos através da análise do cromatograma.

3.2.3. Triacilgliceróis

O método usado na determinação da composição em triacilgliceróis está descrito no anexo VIII do Regulamento (CEE) nº 2568/91, posteriormente alterado pelo Regulamento (CE) nº 702/2007.

A determinação do teor de trilinoleína, descrita no anexo VIII, tem como objectivo a separação e a determinação quantitativa do teor de triacilgliceróis de óleos vegetais, em termos do seu peso molecular e grau de insaturação, em função do respectivo número de átomos de carbono. Neste método é aplicada a cromatografia líquida de alta resolução (HPLC). A percentagem relativa de cada triacilglicerol é fornecida pela análise do cromatograma.

3.2.4. Esteróis totais, eritrodiol e uvaol

Os teores de esteróis e de eritrodiol e uvaol foram determinados de acordo com os anexos V e VI, respectivamente, do Regulamento (CEE) nº 2568/91, posteriormente alterado pelo Regulamento (CE) nº 702/2007.

A matéria gorda, adicionada de α -colestanol como padrão interno, é saponificada com hidróxido de potássio em solução etanólica e, em seguida, o insaponificável é extraído com éter etílico. Procede-se então à separação do insaponificável por cromatografia em camada fina de gel de sílica, isolando-se as zonas correspondentes à fracção esterólica e à fracção de eritrodiol e uvaol.

Os esteróis, o eritrodiol e o uvaol recuperados no gel de sílica são convertidos nos respectivos trimetilsililéteres através da adição de um reagente de sililação e, posteriormente, são analisados por cromatografia em fase gasosa em coluna capilar.

A percentagem de cada esteroide, calculada através da análise do cromatograma, é expressa em percentagem relativa ao conjunto esteróis, de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ do esteroide } x = \frac{A_x}{A} \times 100$$

Onde:

A_x corresponde à área, no cromatograma, do pico do esterol x;

A_s consiste na soma das áreas dos picos do cromatograma, correspondentes a cada um dos esteróis.

O teor de esteróis totais, expressos em mg/kg de matéria gorda, é determinado através da soma dos teores de cada um dos esteróis, dados pela seguinte equação:

$$\text{esterol } x \text{ (mg/100g)} = \frac{A_x \times m_s \times 100}{A_s \times m}$$

Onde:

A_x corresponde à área, no cromatograma, do pico do esterol x;

A_s corresponde à área, no cromatograma, do pico do α -colestanol;

m_s é a massa de α -colestanol adicionada, expressa em miligramas;

m é a massa da toma da amostra usada na determinação, expressa em gramas.

O teor de eritrodiol + uvaol, expresso em percentagem relativa ao conjunto esteróis mais eritrodiol e uvaol, é calculado a partir da seguinte equação:

$$\% \text{ de eritrodiol + uvaol} = \frac{A_1 + A_2}{A_1 + A_2 + \Sigma A_E} \times 100$$

Onde:

A_1 corresponde à área, no cromatograma, do pico do eritrodiol;

A_2 corresponde à área, no cromatograma, do pico do uvaol;

□ A_E consiste na soma das áreas dos picos do cromatograma, correspondentes a cada um dos esteróis.

3.2.5. Polifenóis totais

A determinação dos polifenóis totais foi realizada através de um procedimento interno do LET, de código IT 065, aplicável a azeites. No entanto, este procedimento foi usado, também, nas análises à pasta de azeite.

A fracção fenólica é extraída de uma toma da amostra dissolvida num solvente orgânico

(hexano). Faz-se reagir uma fracção do extracto fenólico com reagente de Folin-Ciocalteu. Posteriormente, quantificam-se os polifenóis totais através de espectrofotometria a 725 nm. O teor de polifenóis totais é calculado usando a seguinte equação:

$$P = \frac{(8,53993721 \times L - 0,24765388) \times 10 \times 25}{m}$$

Onde,

P é o teor de polifenóis totais, expresso em mg/kg;

L é o valor lido no espectrofotómetro;

m é a massa da amostra em estudo, expressa em gramas.

3.2.6. Tocoferóis

Os tocoferóis foram determinados por HPLC de acordo com o procedimento interno do LET, de código IT 064.

O método consiste na injeção de uma toma da amostra, previamente dissolvida num solvente orgânico (acetona), num sistema HPLC com um detector UV. Os diferentes tocoferóis são separados de acordo com o seu coeficiente de partição. Os tempos de retenção dos diferentes tocoferóis são comparados com os de uma mistura conhecida de tocoferóis (solução padrão).

Os teores de α -tocoferol e de γ -tocoferol são calculados a partir das áreas dos respectivos picos observados no cromatograma, de acordo com a seguinte equação:

$$T = \frac{Aa \times Cp \times 1000}{Ap \times m}$$

Onde:

T é o teor de cada tocoferol, expresso em mg/kg;

Aa é a área do pico correspondente a cada tocoferol na amostra;

Ap é a área do pico correspondente ao α -tocoferol do padrão;

Cp é a concentração da solução padrão de trabalho (0,32 ou 0,33), expressa em mg/10 mg;

m é a massa da amostra em estudo, expressa em gramas.

3.2.7. Índice de peróxidos

O índice de peróxidos (IP) foi determinado através do método descrito no anexo III do Regulamento (CEE) nº 2568/91, posteriormente alterado pelo Regulamento (CE) nº 702/2007.

Este parâmetro corresponde à quantidade de substâncias presentes na amostra capazes de oxidar o iodeto de potássio em meio acético. O IP é expresso em miliequivalentes de oxigénio activo por kg de gordura.

A toma da amostra é dissolvida em ácido acético e clorofórmio, com uma solução de iodeto de potássio. Em seguida, é realizada uma titulação do iodo libertado com uma solução padrão de tiosulfato de sódio, usando uma solução de amido como indicador.

O IP é dado pela seguinte equação:

$$IP = \frac{V \times N \times 1000}{m}$$

Onde:

V é volume gasto de tiosulfato de sódio, expresso em mililitros;

N é a normalidade exacta da solução de tiosulfato de sódio usada;

m é a massa da toma de amostra em estudo, expressa em gramas.

3.2.8. Análise espectrofotométrica no UV

A análise espectrofotométrica no ultravioleta foi realizada de acordo com o anexo IX do Regulamento (CEE) nº 2568/91 posteriormente alterado pelo Regulamento (CE) nº 702/2007.

A matéria gorda em estudo é dissolvida num solvente apropriado, determinando-se, em seguida, a absorvância da solução no comprimento de onda prescrito em relação ao solvente puro. Os coeficientes de extinção específica são calculados a partir das leituras espectrofotométricas.

Os coeficientes de extinção específica calculam-se, nos diferentes comprimentos de onda,

de acordo com a equação:

$$K_{\lambda} = \frac{A_{\lambda}}{c \times s}$$

Onde,

K_{λ} é o coeficiente de extinção específica no comprimento de onda λ ;

A_{λ} é a absorvância no comprimento de onda λ ;

c é a concentração da solução, expressa em g/100 ml;

s é a espessura da tina, expressa em centímetros.

3.2.9. Resistência à oxidação

A resistência à oxidação foi determinada no aparelho *Rancimat*, através do método recomendado pela Norma Portuguesa NP 199.

O método consiste na passagem de uma corrente de ar, previamente aquecida a determinada temperatura, através da amostra de óleo ou gordura. Os gases desenvolvidos ao longo deste processo são arrastados, pelo ar, para uma porção de água onde está imerso um eléctrodo de medição de condutividade.

O registo das medições, efectuado pelo próprio aparelho, permite determinar a resistência à oxidação, ou seja, o tempo, expresso em horas, decorrido desde o momento em que a gordura ou óleo atinge a temperatura requerida, até ao momento em que os produtos de oxidação começam a desenvolver-se exponencialmente.

3.2.10. Teor de água

A determinação do teor de água da pasta de azeite foi realizada de acordo com o método descrito na Norma Portuguesa NP 898.

O método baseia-se na determinação da perda de massa, por secagem em estufa, à temperatura de 103 ± 2 °C, de uma toma de amostra. Como material dispersante, é usada areia, que é peneirada, sujeita a um tratamento térmico com ácido clorídrico e, posteriormente, lavada por filtração, mediante sucção, com água e, em seguida, com

acetona.

São realizadas secagens sucessivas a uma cápsula contendo o material dispersante e uma vareta (tara), até que a diferença entre duas pesagens consecutivas não exceda 1,5 mg. A amostra é distribuída sobre a areia, com auxílio da vareta, e o conjunto é pesado antes e após a realização de uma nova série de secagens.

O teor de água é dado pela seguinte equação:

$$\text{Teor de água (\%)} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} \times 100$$

Onde,

m é a massa da tara, depois de sucessivas secagens, expressa em gramas;

m₁ é a massa da tara com a amostra, expressa em gramas;

m₂ é a massa da tara com a amostra, depois de sucessivas secagens, expressa em gramas.

3.2.11. Teor de gordura

O teor de gordura da pasta de azeite foi determinado de acordo com o procedimento interno do LET, de código IT 076.

O método consiste na dissolução da gordura da amostra, previamente pesada, com o solvente éter de petróleo, seguida de uma etapa de centrifugação que permite isolar a fase lipídica dos restantes constituintes da pasta. Após a recolha dessa fase para um balão, previamente pesado, e posterior evaporação do solvente, procede-se à pesagem da gordura. O resultado é dado pela seguinte equação:

$$\text{Gordura (\%)} = \frac{m_{b+g} - m_b}{m_a} \times 100$$

Onde,

m_{b+g} é a massa do balão com a gordura;

m_b é a massa do balão;

m_a é a massa da amostra.

3.2.12. Teor de cloretos

O teor de cloretos na pasta de azeite foi determinado de acordo com o método descrito na Norma Portuguesa NP 901. Esta norma define o teor de cloretos da margarina ou do creme de barrar como a quantidade de anião cloro libertado pelo produto em solução aquosa, expressa em cloreto de sódio.

O método baseia-se na extracção dos cloretos com água em ebulição, seguida de determinação do anião cloro na fase aquosa, através da titulação com uma solução de nitrato de prata.

O resultado é dado pela seguinte equação:

$$W = \frac{(V_1 - V_2)}{m} \times N \times 5,85$$

Onde,

W é o teor de cloretos, expresso em percentagem de cloreto de sódio;

V₁ é o volume da solução de nitrato de prata gasto na titulação do ensaio com a amostra, expresso em mililitros;

V₂ é o volume da solução de nitrato de prata gasto na titulação do ensaio em branco, expresso em mililitros;

N é a normalidade da solução de nitrato de prata usada;

m é a massa da toma da amostra, expressa em gramas.

3.2.13. Inquérito ao consumidor

A pasta de azeite, mantida no frigorífico durante o período de realização do inquérito, foi dada a provar a 20 indivíduos, de idade e ocupação diferentes, em condições apropriadas à análise sensorial. Os 20 indivíduos preencheram então a ficha de prova apresentada em seguida:

Olive Oil Spread – Pasta de Azeite

Provador _____

Data _____

Amostra _____

A. Classifique o produto apresentado quanto a:

1. Aspecto

Desagradável _____ Agradável

2. Cor

Desagradável _____ Agradável

3. Cheiro

Desagradável _____ Agradável

3.1. Cheiro a azeite

Pouco _____ Muito

4. Sabor

Desagradável _____ Agradável

4.1. Sabor a azeite

Pouco _____ Muito

5. Textura na boca

Desagradável _____ Agradável

6. Derretimento na boca

Lento _____ Rápido

7. Dureza

Mole _____ Dura

8. Facilidade em barrar

Difícil _____ Fácil

Olive Oil Spread – Pasta de Azeite

Provedor _____

Data _____

Amostra _____

B. Apreciação global do produto:

Desgosto totalmente ☐

Desgosto moderadamente ☐

Gosto moderadamente ☐

Gosto muito ☐

C. Compraria este produto?

Sim ☐

Não ☐

Não sei / Não estou certo ☐

Porquê?

D. Substituiria as margarinas que consome habitualmente por este produto?

Sim ☐

Não ☐

Não sei / Não estou certo ☐

Porquê?

E. Substituiria a manteiga que consome habitualmente por este produto?

Sim ☐

Não ☐

Não sei / Não estou certo ☐

Porquê?

4. NOVO PRODUTO *versus* AZEITE

Neste capítulo são analisados os resultados relativos à análise química da pasta de azeite e do azeite virgem extra que lhe deu origem. Os resultados com a indicação de mês 0 dizem respeito às análises realizadas logo após a produção da pasta e os resultados do mês 1 e do mês 2 correspondem às análises realizadas após um e dois meses de conservação, respectivamente.

4.1. ACIDEZ

No quadro III estão indicados os valores de acidez obtidos, expressos em percentagem de ácido oleico na matéria seca.

QUADRO III
Resultados obtidos relativamente à acidez (% de ácido oleico na matéria seca)

	<i>Mês 0</i>	<i>Mês 1</i>	<i>Mês 2</i>
Azeite	0,22	0,21	0,22
Pasta (Frigorífico)	0,26	0,25	0,26
Pasta (Ambiente)	0,26	0,28	0,27

Os resultados obtidos no mês 0 apontam para uma pequena subida da acidez na pasta de azeite, durante a sua produção. No entanto, os valores mantêm-se muito abaixo do limite de 0,8%, imposto pelo COI e pelo regulamento (CE) nº 702/2007 para azeites virgem extra (fig. 8).

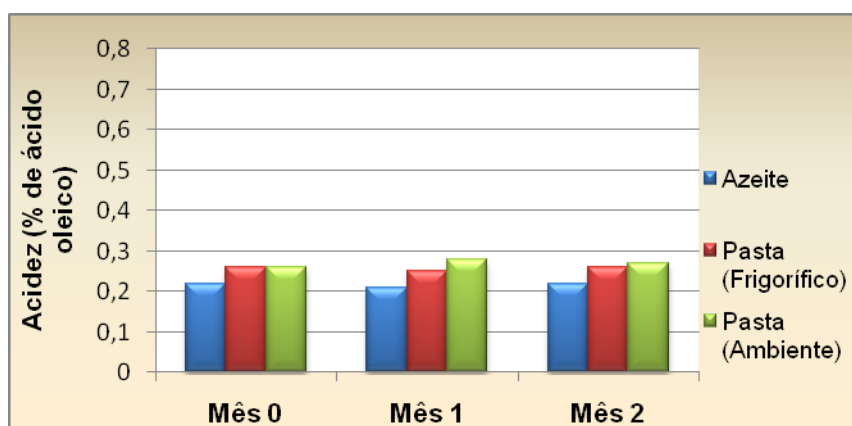


Fig. 8: Evolução da acidez no azeite e na pasta

O aumento observado é devido, muito provavelmente, à presença de uma fase aquosa na pasta, que pode provocar alguma hidrólise dos triacilgliceróis do azeite, durante o processamento da mesma. Atendendo a que a pasta de azeite foi aquecida a 60 °C antes da análise, e sendo a temperatura um dos principais factores que promovem a hidrólise dos triacilgliceróis, poderá admitir-se que parte deste aumento se deve ao aquecimento prévio.

Os resultados sugerem ainda que o aumento da acidez, verificado na pasta de azeite, seja mais acentuado na pasta conservada à temperatura ambiente.

Nos restantes meses não parece haver alterações relevantes na acidez de cada produto, no entanto, atendendo ao teor de humidade existente na pasta, torna-se importante monitorizar este parâmetro durante mais alguns meses de conservação.

Tendo em conta que a libertação de ácidos gordos insaturados pode conduzir a reacções de oxidação, é importante ter em atenção estes resultados na avaliação dos outros parâmetros analisados.

4.2. ÁCIDOS GORDOS TOTAIS E ISÓMEROS *TRANS*

A composição qualitativa e quantitativa em ácidos gordos determinada para o azeite virgem extra e para a pasta de azeite, nos três períodos de análise referidos, está discriminada no quadro IV.

Numa primeira análise dos resultados é possível verificar a presença, na pasta de azeite, do ácido láurico (C12:0) e do ácido pentadecanóico (C15:0). Embora presentes em percentagens mínimas, é de referir que estes ácidos gordos não existem no azeite, sendo por isso provenientes dos auxiliares tecnológicos adicionados durante a produção da pasta.

Na maioria dos ácidos gordos com menos expressão no azeite não parece haver alteração das suas percentagens durante a produção da pasta de azeite. É o caso dos ácidos heptadecanóico (C17:0), heptadecenóico (C17:1), araquídico (C20:0), eicosenóico (C20:1), behénico (C22:0) e lignocérico (C24:0). De um modo geral, os resultados do mês 1 e do mês 2 indicam que a evolução destes ácidos é semelhante no azeite e na pasta.

QUADRO IV
Resultados obtidos relativamente à composição em ácidos gordos (%)

Ácidos Gordos	Mês 0		Mês 1			Mês 2		
	Azeite	Pasta	Azeite	Pasta (F)	Pasta (A)	Azeite	Pasta (F)	Pasta (A)
Láurico	-	0,04	-	0,04	0,05	-	0,04	0,05
Mirístico	0,01	0,08	0,01	0,09	0,10	0,01	0,09	0,10
Pentadecanóico	-	0,01	-	0,01	0,01	-	0,01	0,01
Palmitico	13,23	14,54	14,11	15,72	16,17	13,09	15,76	16,21
Palmitoleico	1,36	1,30	1,47	1,31	1,34	1,34	1,31	1,34
Heptadecanóico	0,12	0,12	0,13	0,13	0,13	0,12	0,13	0,13
Heptadecenóico	0,23	0,22	0,26	0,22	0,23	0,24	0,22	0,23
Esteárico	2,75	4,61	2,69	5,99	6,09	2,75	5,94	6,04
Oleico	73,83	70,93	72,97	68,61	68,08	73,90	68,62	68,12
Linoleico	7,09	6,79	7,04	6,56	6,51	7,15	6,59	6,53
Linolénico	0,60	0,58	0,60	0,57	0,56	0,59	0,56	0,54
Araquídico	0,38	0,38	0,35	0,37	0,36	0,38	0,37	0,36
Eicosenóico	0,24	0,24	0,23	0,23	0,22	0,26	0,24	0,21
Behénico	0,11	0,11	0,10	0,10	0,10	0,11	0,10	0,09
Lignocérico	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05	0,04
Transoleico	0,03	0,03	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Translinoleico + Translinolénico	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

Pasta (F) – Pasta mantida no frigorífico; Pasta (A) – Pasta mantida à temperatura ambiente

Quanto aos ácidos gordos de configuração *trans* não parece haver alteração dos teores encontrados no azeite de origem (quadro IV).

Um dos factores de diferenciação do azeite é o seu elevado teor de ácido oleico. Na figura 9 pode observar-se esta variação deste parâmetro entre o azeite e a pasta, nos diferentes tempos de análise. Apesar da diminuição verificada na pasta de azeite, há que considerar que a pasta de azeite é uma gordura sólida e, como tal, a percentagem de ácidos gordos insaturados deverá ser menor do que no óleo. No entanto, é de realçar que o teor de ácido oleico mantém-se dentro dos valores normais para o azeite, ou seja, consideravelmente elevado.

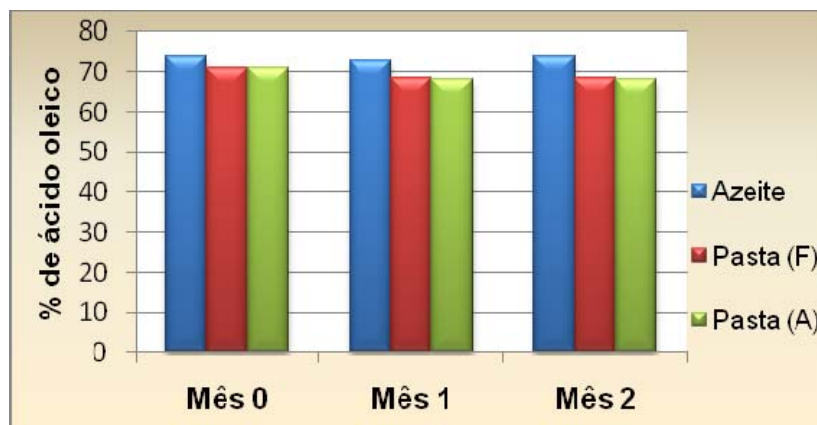


Fig. 9: Evolução da percentagem de ácido oleico no azeite e na pasta

É importante analisar ainda a composição em ácidos gordos saturados. Na figura 10 estão representados os resultados obtidos relativamente a este parâmetro que apontam para algum aumento do teor de saturados na pasta de azeite. Esta variação é visível logo após o processamento da pasta (mês 0) e torna-se um pouco mais expressiva nos meses seguintes.

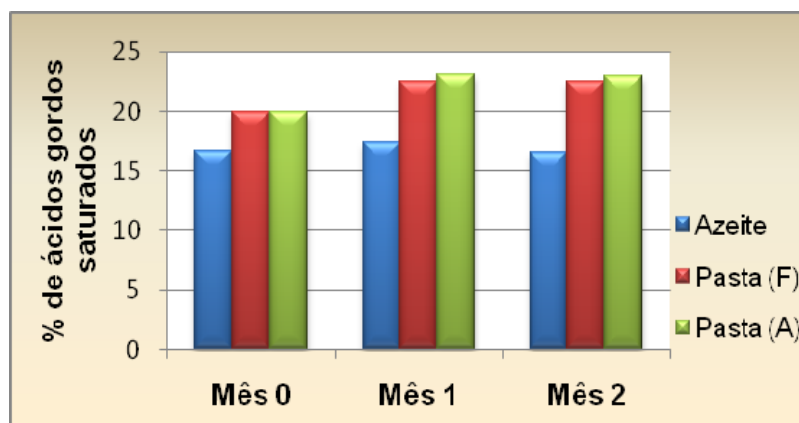


Fig. 10: Evolução da percentagem de ácidos gordos saturados no azeite e na pasta

Tratando-se de uma gordura sólida, e atendendo à diminuição do teor de ácido oleico (monoinsaturado) já verificada, este aumento era previsível. Os ácidos mirístico (C14:0) e esteárico (C18:0) são os que têm aumentos mais acentuados (quadro IV).

Nos ácidos gordos essenciais, linoleico e linolénico, tal como acontece no ácido oleico, parece ocorrer uma ligeira diminuição dos seus teores na pasta de azeite (fig. 11 e 12). No entanto, as alterações verificadas não são suficientemente expressivas para afectarem a qualidade do azeite na forma de pasta.

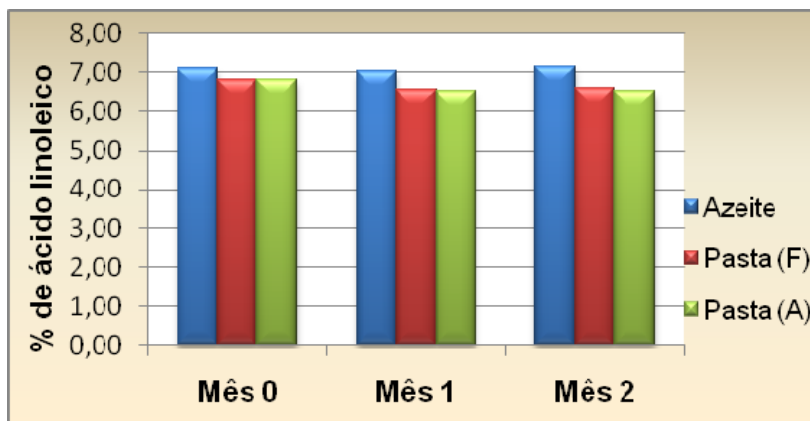


Fig. 11: Evolução da percentagem de ácido linoleico no azeite e na pasta

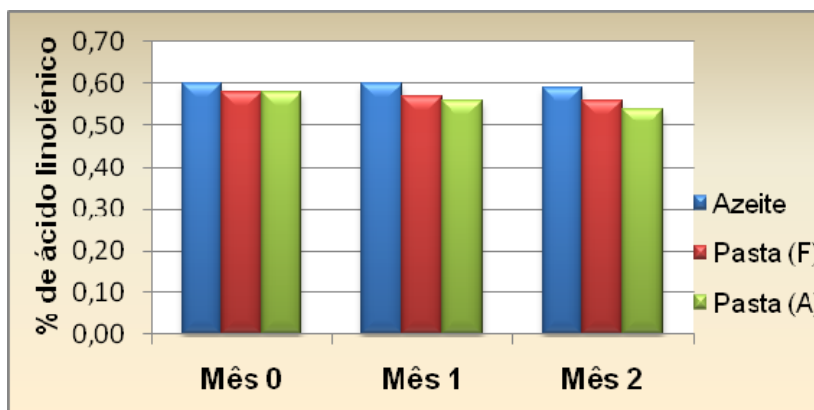


Fig. 12: Evolução da percentagem de ácido linolénico no azeite e na pasta

4.3. TRIACILGLICERÓIS

A composição qualitativa e quantitativa em triacilgliceróis é outro parâmetro analisado neste estudo. Os resultados obtidos no azeite e na pasta nos diferentes períodos de análise encontram-se representados no quadro V.

QUADRO V
Resultados obtidos relativamente à composição em triacilgliceróis (%)

Triacilgliceróis	Mês 0		Mês 1			Mês 2		
	Azeite	Pasta	Azeite	Pasta (F)	Pasta (A)	Azeite	Pasta (F)	Pasta (A)
LLL	0,04	0,08	0,07	0,07	0,08	0,05	0,05	0,09
OLL _n	0,14	0,14	0,18	0,18	0,21	0,16	0,22	0,22
PLL _n	0,07	0,04	0,05	0,08	0,05	0,01	0,09	0,09
OLL	1,62	1,64	1,67	1,66	1,65	1,71	1,65	1,65
OOL _n	1,64	1,61	1,66	1,68	1,60	1,81	1,57	1,60
PLL	0,62	0,63	0,62	0,64	0,62	0,76	0,54	0,60
POL _n	0,16	0,15	0,11	0,15	0,15	0,19	0,13	0,17
OOL+ P _o OO+S _t LL	12,21	12,10	12,16	11,92	12,10	12,16	12,18	12,07
POL	5,38	5,52	5,46	5,40	5,33	5,42	5,53	5,49
???	0,98	1,00	0,76	0,92	0,95	0,68	0,73	0,78
PP _o O	0,61	0,85	0,59	0,66	0,63	0,58	0,74	0,76
PPL	0,46	0,64	0,41	0,49	0,55	0,38	0,48	0,50
M _y OP	0,13	0,11	0,12	0,13	0,08	0,12	0,05	0,06
OOO	39,85	39,59	39,63	39,34	39,56	40,53	40,16	39,48
POO	25,05	24,83	24,98	25,08	24,79	24,89	25,05	25,08
PPO	3,84	3,70	3,92	4,08	3,91	3,77	3,84	3,93
PPP	0,17	0,40	0,27	0,26	0,32	0,18	0,10	0,39
???	0,40	0,26	0,38	0,49	0,29	0,35	0,34	0,32
S _t OO	5,03	5,08	5,05	5,00	5,38	5,25	4,94	5,15
PS _t O	1,26	1,22	1,41	1,14	1,41	1,12	1,36	1,20
PPS _t	0,34	0,41	0,50	0,54	0,34	0,35	0,25	0,35

Pasta (F) – Pasta mantida no frigorífico; Pasta (A) – Pasta mantida à temperatura ambiente; L – ácido linoleico; O – ácido oleico; L_n – ácido linoleico, P – ácido palmítico; P_o – ácido palmitoleico; S_t – ácido esteárico; ??? – Triacilglicerol não identificado; M_y – ácido mirístico.

De acordo com os resultados obtidos, a maioria dos triacilgliceróis, incluindo os mais relevantes na constituição do azeite (OOO, POO, OOL, POL e S_tOO), não parecem apresentar variações relevantes nos seus teores percentuais entre o azeite e a pasta (refrigerada e não refrigerada).

Estes resultados sugerem, então, que a composição em triacilgliceróis do azeite não é afectada pela transformação em pasta.

4.4. ESTERÓIS TOTAIS, ERITRODIOL E UVAOL

A composição em esteróis totais do azeite e da pasta, nos três períodos de análise, estão expostos no quadro VI.

QUADRO VI
Resultados obtidos relativamente à composição em esteróis (%)

<i>Esteróis Totais</i>	<i>Mês 0</i>		<i>Mês 1</i>			<i>Mês 2</i>		
	Azeite	Pasta	Azeite	Pasta (F)	Pasta (A)	Azeite	Pasta (F)	Pasta (A)
Colesterol	0,24	0,28	0,17	0,23	0,22	0,18	0,21	0,22
Campesterol	2,97	3,33	2,98	3,32	3,34	3,14	3,33	3,23
Estigmasterol	0,61	0,68	0,67	0,65	0,63	0,58	0,63	0,61
β-sitosterol aparente	95,36	94,76	95,31	94,97	95,10	95,49	95,09	95,16
Δ-7-estigmastenol	0,17	0,18	0,32	0,18	0,18	0,17	0,16	0,16

Pasta (F) – Pasta mantida no frigorífico; Pasta (A) – Pasta mantida à temperatura ambiente

Como se pode observar nos resultados referentes ao mês 0, existem algumas pequenas variações da composição esterólica durante a produção da pasta de azeite.

No gráfico da figura 13 é possível observar algum acréscimo do teor de colesterol na pasta logo no mês 0, comportamento que se verifica igualmente nos restantes meses, apesar de ocorrer uma redução generalizada do colesterol em todos os produtos, durante o primeiro mês de conservação. No entanto, é de salientar o facto do teor de colesterol se manter muito abaixo do limite estabelecido para os azeites (0,5%), pelo que esta alteração não parece ter implicações graves na qualidade do azeite na forma de pasta.

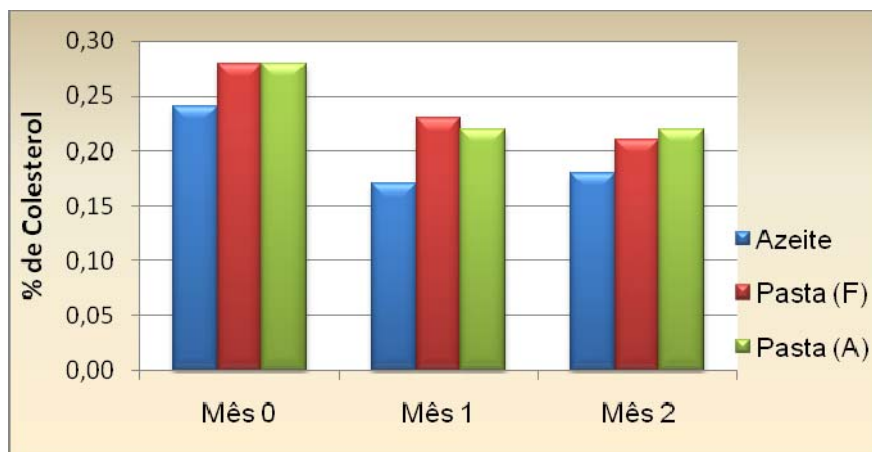


Fig. 13: Evolução do teor de colesterol no azeite e na pasta

O teor de campesterol (fig. 14) não parece apresentar alterações relevantes ao longo do tempo, mas, entre o azeite e a pasta refrigerada e não refrigerada, os resultados sugerem uma algum aumento do teor de campesterol na pasta, não chegando, no entanto, em nenhum dos casos, a ultrapassar o limite estabelecido para os azeites (4%).

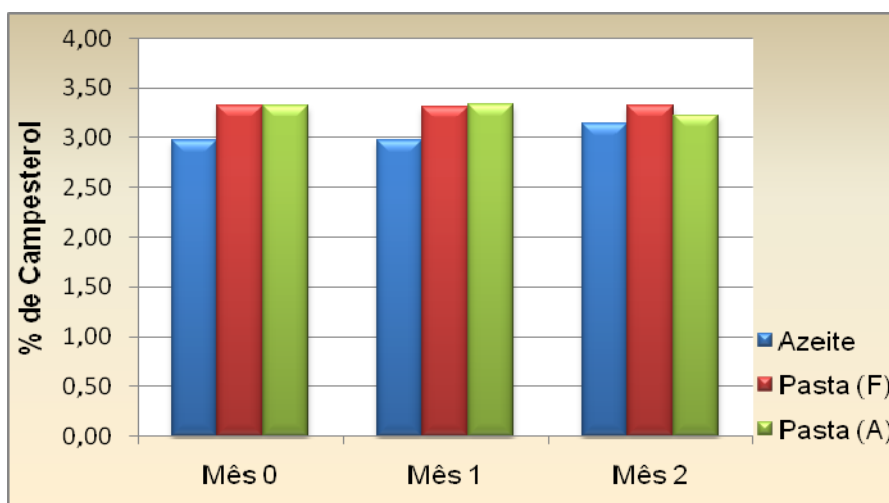


Fig. 14: Evolução do teor de campesterol no azeite e na pasta

A determinação do β -sitosterol aparente abrange os valores dos teores de β -sitosterol, Δ -5-avenasterol, Δ -5,23-estigmastadienol, clerosterol, sitostanol e Δ -5,24-estigmastadienol. No entanto o β -sitosterol é o componente maioritário neste grupo, assim como em toda a fracção esterólica do azeite. Relativamente a este parâmetro, os resultados não parecem indicar variações expressivas, quer entre os produtos, quer ao longo do tempo, tal como se pode verificar na figura 15, sendo o teor encontrado na pasta razoavelmente elevado.

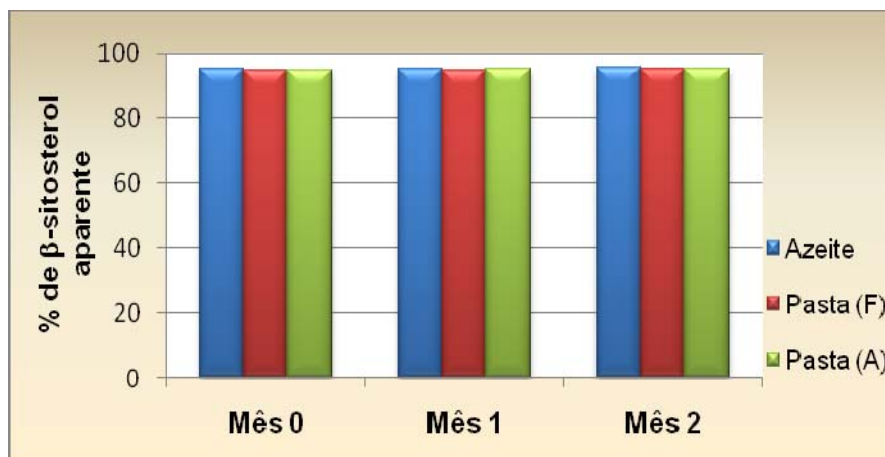


Fig. 15: Evolução do teor de β -sitosterol aparente no azeite e na pasta

Os resultados respeitantes à determinação do teor de esteróis totais no azeite e na pasta são apresentados no quadro VII.

QUADRO VII

Resultados obtidos relativamente ao teor de esteróis totais (mg/kg de matéria seca)

	Mês 0	Mês 1	Mês 2
Azeite	1742,95	1474,5	1435,62
Pasta (Frigorífico)	1602,56	1385,03	1441,07
Pasta (Ambiente)	1602,56	1423,59	1460,60

Neste caso, os resultados sugerem uma diminuição considerável do teor de esteróis totais, tanto no azeite como na pasta refrigerada e não refrigerada, logo no primeiro mês de conservação. No entanto, os resultados em cada mês não parecem indicar variações relevantes entre os produtos (fig. 16).

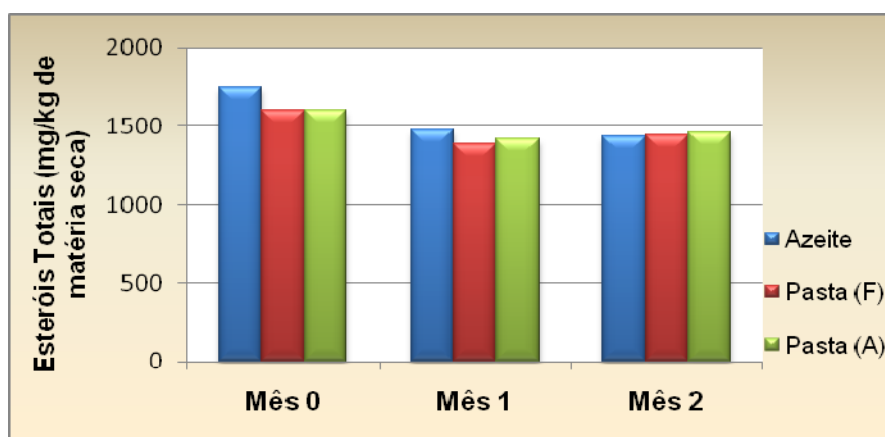


Fig. 16: Evolução do teor de esteróis totais na matéria seca do azeite e da pasta

No quadro VIII são apresentados os valores relativos à análise da percentagem dos álcoois triterpênicos eritrodiol e uvaol.

QUADRO VIII
Resultados obtidos relativamente ao teor de eritrodiol + uvaol (%)

	<i>Mês 0</i>	<i>Mês 1</i>	<i>Mês 2</i>
Azeite	1,28	1,35	1,50
Pasta (Frigorífico)	1,41	1,38	1,60
Pasta (Ambiente)	1,41	1,32	1,45

Esta percentagem é relativa ao conjunto dos esteróis totais mais o eritrodiol e o uvaol. As variações encontradas entre os produtos são relativamente pequenas, mas, em termos de evolução no tempo, parece haver algum aumento deste parâmetro do mês 1 para o mês 2 (fig. 17).

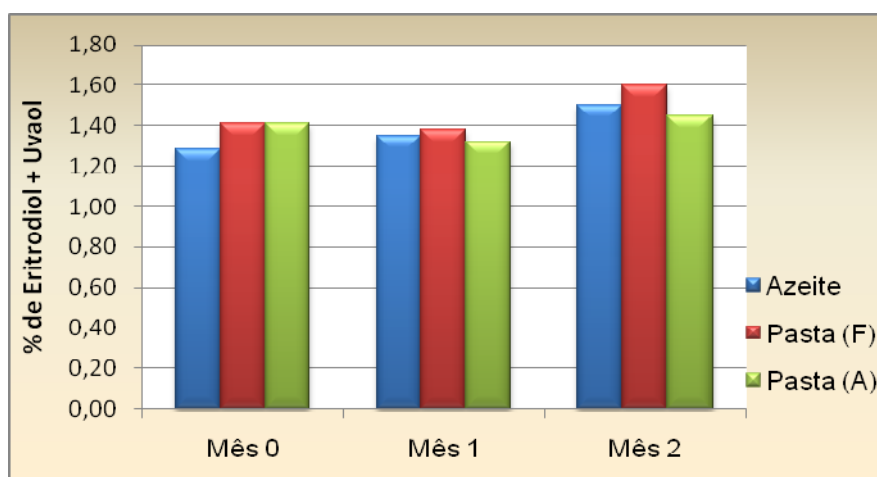


Fig. 17: Evolução do teor de eritrodiol + uvaol no azeite e na pasta

No entanto, mais uma vez, as alterações verificadas não implicam uma perda de qualidade do azeite na forma de pasta, mantendo-se o valor em questão muito abaixo do limite estabelecido para os azeites (4,5%).

4.5. POLIFENÓIS TOTAIS

No quadro IX estão indicados os resultados relativos ao teor de polifenóis totais, no azeite e na pasta, apenas nos dois primeiros meses de análise, uma vez que surgiram complicações na análise à pasta de azeite. Esta determinação foi afectada pela presença de um agente

emulsionante (utilizado no processamento da pasta), que dificultou o processo de extracção da fracção fenólica.

QUADRO IX
Resultados obtidos relativamente ao teor de polifenóis totais (mg/kg de matéria seca)

	<i>Mês 0</i>	<i>Mês 1</i>
Azeite	144,25	146,03
Pasta (Frigorífico)	101,31	114,24
Pasta (Ambiente)	101,31	110,78

Os resultados obtidos sugerem uma redução considerável do teor de polifenóis totais durante a produção da pasta. No entanto, há que salientar que o processo de extracção da fracção fenólica da pasta não foi, muito provavelmente, completo, podendo justificar o decréscimo observado na pasta de azeite.

De qualquer forma, era esperada uma certa redução no teor de polifenóis da pasta de azeite, uma vez que estes são compostos facilmente oxidáveis e que a pasta está sujeita a um contacto mais prolongado com o oxigénio, durante o seu processamento.

4.6. TOCOFERÓIS

Os resultados obtidos relativamente ao teor de tocoferóis no azeite e na pasta, nos três períodos de análise referidos, são apresentados no quadro X.

QUADRO X
Resultados obtidos relativamente ao teor de tocoferóis (mg/kg de matéria seca)

<i>Tocoferóis</i>	<i>Mês 0</i>		<i>Mês 1</i>			<i>Mês 2</i>		
	Azeite	Pasta	Azeite	Pasta (F)	Pasta (A)	Azeite	Pasta (F)	Pasta (A)
α-tocoferol	224,40	222,02	232,22	240,79	233,16	264,32	236,31	203,26
γ-tocoferol	36,31	28,47	17,64	23,72	18,20	17,80	29,56	16,02

Pasta (F) – Pasta mantida no frigorífico; Pasta (A) – Pasta mantida à temperatura ambiente

Atendendo aos resultados, pode admitir-se que o teor de tocoferóis não é muito afectado pelo processamento da pasta de azeite.

Relativamente ao α -tocoferol (fig. 18), é possível admitir que há uma certa tendência para o aumento do seu teor no azeite e na pasta refrigerada. Esta subida deve-se, provavelmente, ao facto da síntese deste composto continuar no azeite e na pasta, após o primeiro período de análise. O facto deste aumento não se verificar na pasta conservada à temperatura ambiente poderá indicar uma perda considerável do α -tocoferol quando o produto não é refrigerado. Torna-se então importante monitorizar este parâmetro durante mais alguns meses.

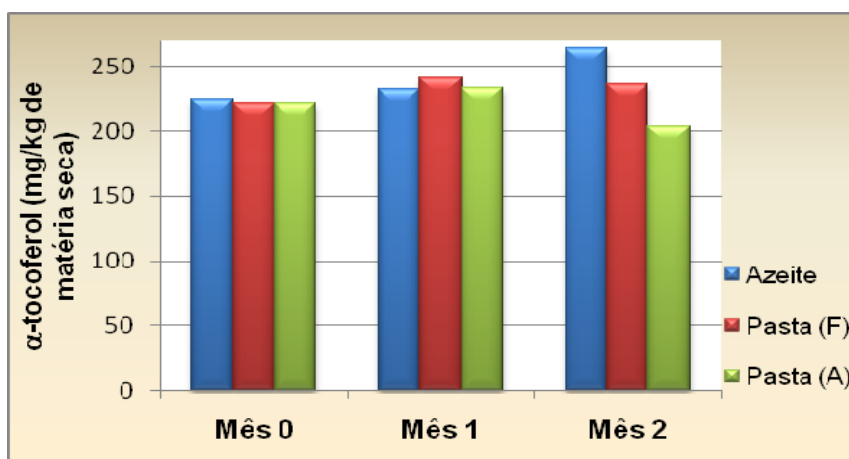


Fig. 18: Evolução do teor de α -tocoferol na matéria seca do azeite e da pasta

Relativamente ao teor de γ -tocoferol no azeite e na pasta, é possível observar, no gráfico da figura 19, que há uma certa tendência para a diminuição do seu valor no azeite, ao contrário do que acontece na pasta refrigerada, onde o teor se mantém, aparentemente, constante. Tais resultados mostram a necessidade de prolongar esta análise por mais alguns meses, de forma a verificar se realmente há uma melhor conservação deste parâmetro na pasta do que no azeite.

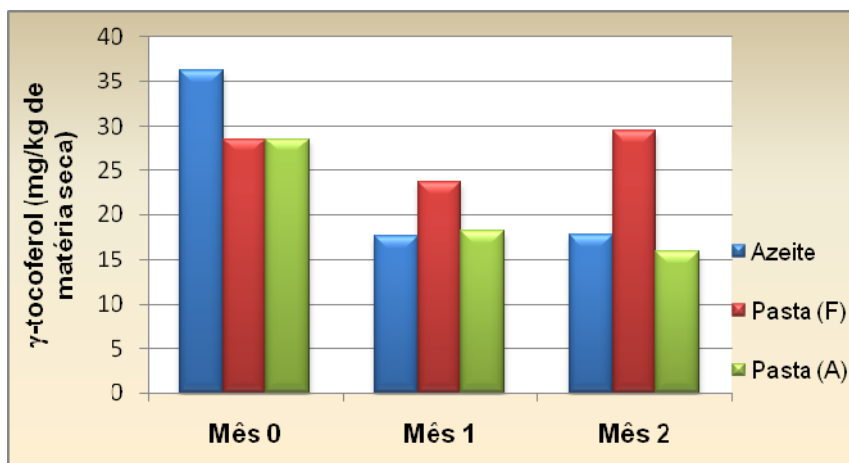


Fig. 19: Evolução do teor de γ -tocoferol no azeite e na pasta

4.7. ÍNDICE DE PERÓXIDOS

No quadro XI estão indicados os valores obtidos relativamente ao índice de peróxidos (IP) no azeite e na pasta, nos três períodos de análise.

QUADRO XI
Resultados obtidos relativamente ao índice de peróxidos (meq O₂/kg de matéria seca)

	<i>Mês 0</i>	<i>Mês 1</i>	<i>Mês 2</i>
Azeite	13,52	22,41	13,85
Pasta (Frigorífico)	11,45	12,52	12,82
Pasta (Ambiente)	11,45	17,74	27,72

É possível verificar algumas discrepâncias, nomeadamente, no valor obtido no azeite no mês 1 e nos valores correspondentes à pasta de azeite mantida à temperatura ambiente (fig. 20). No caso do azeite, é provável que tenha ocorrido alguma incorrecção na determinação de referido valor uma vez que o IP no mês anterior e no mês seguinte é bastante semelhante. Já os resultados relativos à pasta de azeite não refrigerada parecem indicar uma certa subida do IP, sendo mesmo ultrapassado o limite estabelecido para os azeites virgens (20 meq O₂/kg), implicando uma perda de qualidade expressiva da pasta quando esta é conservada fora do frigorífico.

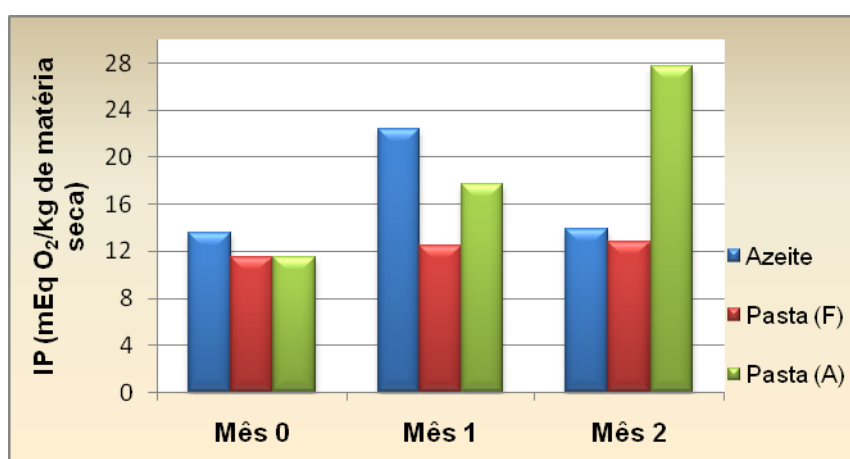


Fig. 20: Evolução do índice de peróxidos (IP) no azeite e na pasta

É importante relembrar que a pasta de azeite tem de ser aquecida a 60 °C antes da análise. Uma vez que as reacções de oxidação são estimuladas pela temperatura, poderá admitir-se que tenha havido algum aumento deste parâmetro devido a este aquecimento prévio.

4.8. ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA NO UV

No quadro XII são apresentados os valores dos coeficientes de extinção aos comprimentos de onda 232 e 270 nm encontrados no azeite e na pasta, nos diferentes períodos de análise.

QUADRO XII
Resultados obtidos relativamente à análise espectrofotométrica no UV

Coeficientes de extinção	Mês 0		Mês 1			Mês 2		
	Azeite	Pasta	Azeite	Pasta (F)	Pasta (A)	Azeite	Pasta (F)	Pasta (A)
K_{232}	2,108	2,238	2,398	2,030	2,425	2,285	2,225	2,475
K_{270}	0,118	0,105	0,116	0,118	0,454	0,109	0,168	0,186

Pasta (F) – Pasta mantida no frigorífico; Pasta (A) – Pasta mantida à temperatura ambiente

Analisando em pormenor os valores relativos ao K_{232} (fig. 21), é possível verificar que, apesar dos pequenos aumentos observados, a variação não parece ser relevante e os valores mantêm-se abaixo do limite estabelecido para os azeites virgens (2,6).

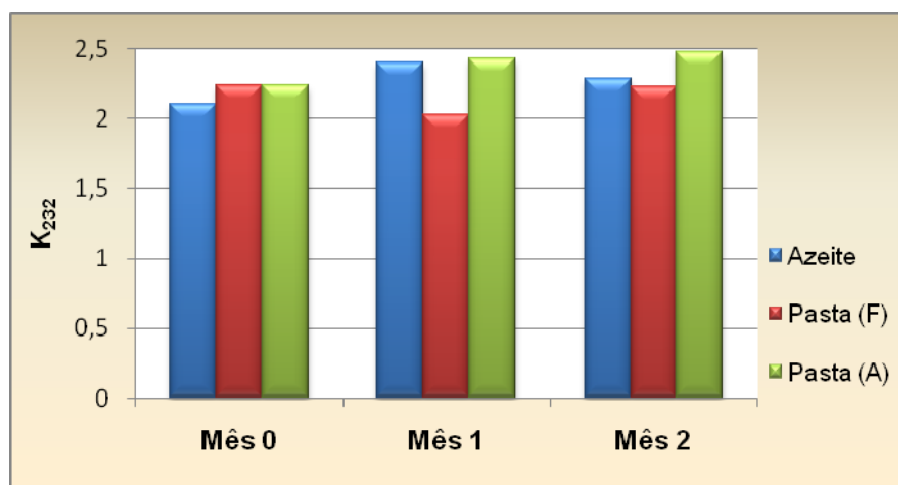


Fig. 21: Evolução do valor de K_{232} no azeite e na pasta

Em relação aos resultados referentes ao K_{270} , representados graficamente na figura 22, é perceptível uma discrepância no resultado relativo à pasta de azeite mantida à temperatura ambiente para o mês 1. No entanto, os resultados do mês seguinte, onde esta discrepância não acontece, parecem indicar que alteração verificada no mês 1 foi devida a alguma incorrecção na determinação laboratorial e que, portanto, também neste parâmetro, não parece haver variações expressivas entre o azeite e a pasta.

É de realçar que estas incorrecções nas determinações laboratoriais são devidas, muito provavelmente, à etapa de preparação da pasta de azeite para análise, onde esta é sujeita a um aquecimento de forma a manter a pasta no estado líquido.

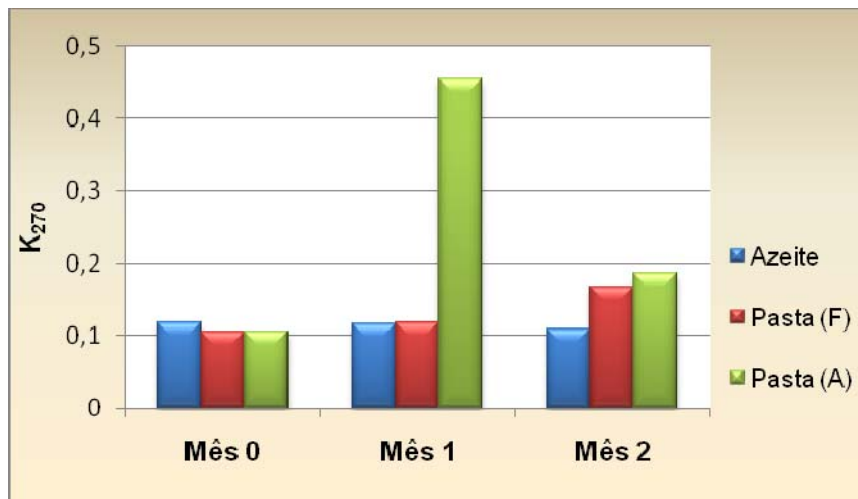


Fig. 22: Evolução do valor de K_{270} no azeite e na pasta

4.9. RESISTÊNCIA À OXIDAÇÃO

A resistência à oxidação é determinada no aparelho *Rancimat*. Os resultados obtidos no azeite e na pasta, nos três períodos de análise, encontram-se representados no quadro XIII.

QUADRO XIII
Resultados obtidos relativamente à resistência à oxidação (horas)

	Mês 0	Mês 1	Mês 2
Azeite	11,5	14,0	16,3
Pasta (Frigorífico)	16,1	17,0	13,3
Pasta (Ambiente)	16,1	14,0	9,3

Numa primeira análise, os resultados apontam para uma maior resistência à oxidação na pasta do que no azeite logo após o seu processamento. No entanto, com o passar do tempo, as variações observadas não permitem afirmar o mesmo, uma vez que a resistência do azeite à oxidação parece aumentar e a da pasta refrigerada parece manter-se e diminuir apenas ao fim de 2 meses (fig. 23). Quanto à pasta não refrigerada é possível admitir que haja uma quebra expressiva da sua estabilidade oxidativa ao longo do tempo.

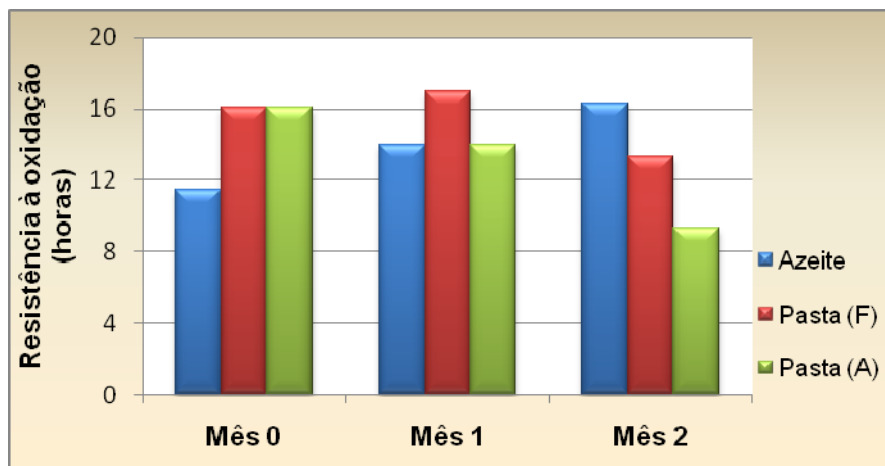


Fig. 23: Evolução da resistência à oxidação no azeite e na pasta

Tal como indicou a análise ao índice de peróxido, os resultados apontam novamente para uma pior conservação da pasta de azeite à temperatura ambiente.

4.10. TEOR DE ÁGUA

Os resultados relativos ao teor de água da pasta de azeite, para os três períodos de análise, estão indicados no quadro XIV.

QUADRO XIV
Resultados obtidos relativamente ao teor de água da pasta de azeite (%)

	Mês 0	Mês 1	Mês 2
Pasta (Frigorífico)	4,07	4,28	4,29
Pasta (Ambiente)	4,07	2,28	3,64

Analisando então os resultados, verifica-se uma redução considerável do teor de água da pasta não refrigerada no mês 1 e, também, no mês 2, embora no último caso a diferença não seja tão acentuada. Este resultado parece razoável uma vez que fora do frigorífico a humidade do meio envolvente é mais variável e mais baixa, promovendo alguma perda de água do produto para o ambiente.

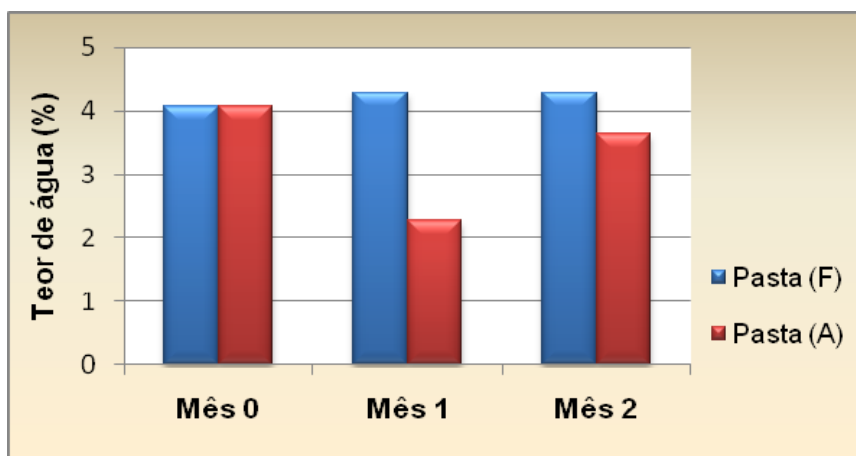


Fig. 24: Evolução do teor de humidade na pasta de azeite

4.11. TEOR DE GORDURA

No quadro XV são apresentados os resultados obtidos na análise ao teor de gordura (relativo à matéria total) da pasta de azeite, logo após a sua produção e nos dois meses seguintes, bem como os respectivos valores do teor de gordura na matéria seca, calculados a partir dos teores de água anteriormente determinados (quadro XIV).

Numa primeira análise, verifica-se que valor determinado no mês 0 encontra-se acima dos 90%. De acordo com o regulamento (CE) nº 2991/94, este valor coloca a pasta de azeite numa categoria diferente de todas as margarinas e cremes vegetais para barrar.

QUADRO XV
Resultados obtidos relativamente ao teor de gordura da pasta de azeite (%)

% de Gordura	Mês 0	Mês 1		Mês 2	
	Pasta	Pasta (F)	Pasta (A)	Pasta (F)	Pasta (A)
Relativa à matéria total	92,17	89,96	92,12	91,53	92,65
Relativa à matéria seca	96,08	93,98	94,27	95,63	96,15

Pasta (F) – Pasta mantida no frigorífico; Pasta (A) – Pasta mantida à temperatura ambiente

Atendendo às diferenças relativamente ao teor de água, acima verificadas, não seria possível uma comparação exacta da evolução do teor de gordura utilizando os valores obtidos na análise, relativos à matéria total. Através da observação dos valores relativos à matéria seca (fig. 25) é possível constatar não existem variações relevantes deste parâmetro, quer entre os produtos, quer ao longo do tempo.

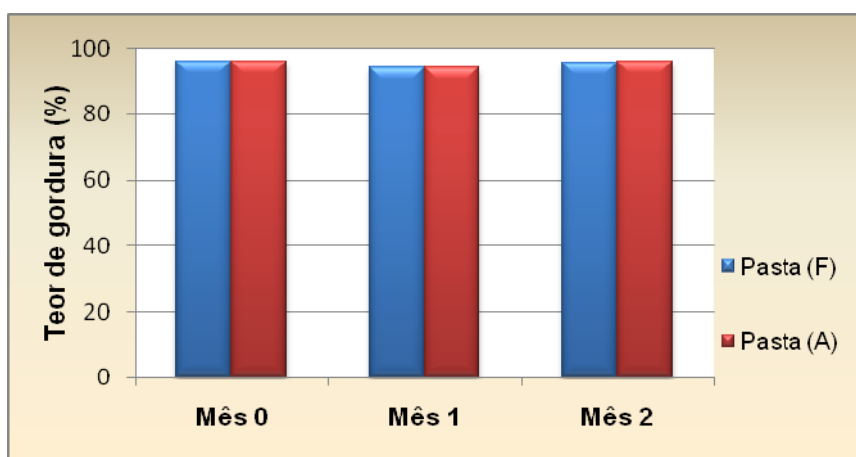


Fig. 25: Evolução do teor de gordura na matéria seca da pasta de azeite

4.12. TEOR DE CLORETOS

A determinação do teor de cloretos é uma análise vulgar para margarinas e cremes vegetais para barrar, visto ser um parâmetro importante na avaliação da qualidade nutricional e salutar de qualquer produto alimentar.

No quadro XVI são apresentados os resultados obtidos na análise ao teor de cloretos (relativo à matéria total), nos três períodos de estudo, bem como os respectivos valores do teor de cloretos na matéria seca, calculados a partir dos teores de água anteriormente determinados (quadro XIV).

QUADRO XVI

Resultados obtidos relativamente ao teor de cloretos da pasta de azeite (% de cloreto de sódio)

% de Cloreto de Sódio	Mês 0	Mês 1		Mês 2	
	Pasta	Pasta (F)	Pasta (A)	Pasta (F)	Pasta (A)
Relativa à matéria total	0,37	0,37	0,40	0,36	0,38
Relativa à matéria seca	0,39	0,39	0,41	0,38	0,40

Pasta (F) – Pasta mantida no frigorífico; Pasta (A) – Pasta mantida à temperatura ambiente

Mais uma vez, para avaliar a evolução do parâmetro na pasta de azeite, para os diferentes modos de conservação, ao longo do tempo, é necessário ter em conta os teores relativos à matéria seca (fig. 26).

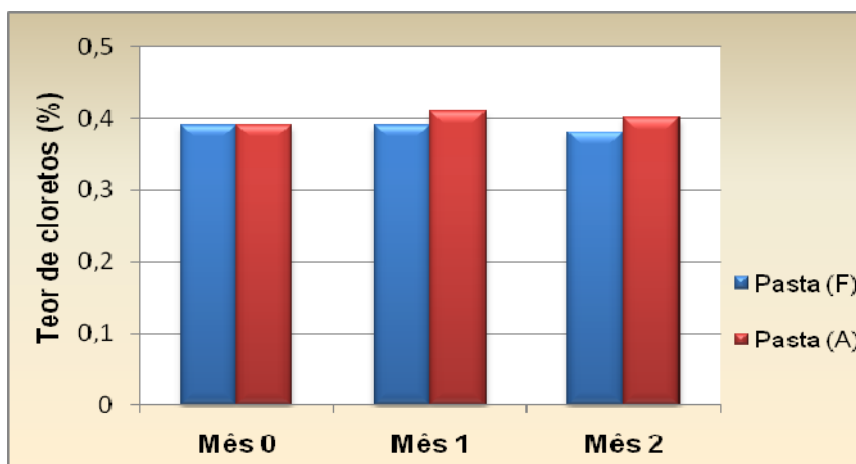


Fig. 26: Evolução do teor de cloretos na matéria seca da pasta de azeite

Como se pode observar, o teor de cloretos parece manter-se constante na pasta refrigerada, apresentando uma ligeira subida na pasta mantida à temperatura ambiente.

É de referir que o teor de cloretos, em qualquer um dos casos, é muito inferior aos 3% permitidos por lei nas margarinas (Decreto-lei nº 59/85). Para além disso, o seu valor está relativamente próximo do limite máximo de 0,31% dos produtos com baixo teor de sal (regulamento (CE) nº 1924/2006).

4.13. INQUÉRITO AO CONSUMIDOR

Os resultados do inquérito ao consumidor relativos à classificação do produto estão indicados no quadro XVII. A pasta de azeite foi dada a provar a 20 indivíduos, de idade e ocupação diferentes, em condições apropriadas à análise sensorial. Os 20 indivíduos preencheram então a ficha de prova, classificando a pasta quanto ao aspecto, à cor, ao cheiro, ao cheiro a azeite, ao sabor, ao sabor a azeite, à textura na boca, ao derretimento na boca, à dureza e à facilidade em barrar. Os valores variam entre 0 e 100 mm do segmento de recta usado na avaliação de cada parâmetro.

Numa primeira análise, é possível verificar que há uma grande variabilidade de resposta, que era esperada, atendendo às diferenças entre os indivíduos inquiridos. No histograma da figura 27 é possível observar a média dos resultados de cada apreciação, bem como os respectivos desvios médios, i. e., a média aritmética dos desvios absolutos à média das apreciações.

QUADRO XVII
Resultados do inquérito ao consumidor relativos à classificação do produto

<i>Indivíduo</i>	Aspecto	Cor	Cheiro	Cheiro a azeite	Sabor	Sabor a azeite	Textura na boca	Derreter na boca	Dureza	Facilidade em barrar
1	72	61	68	100	72	77	74	99	0	100
2	68	68	65	46	67	67	68	72	12	90
3	23	28	48	79	58	68	62	63	0	100
4	26	71	47	82	65	64	86	100	0	100
5	58	90	83	57	92	77	93	80	0	99
6	46	92	78	45	83	88	31	84	14	73
7	63	77	75	76	63	85	74	92	3	97
8	58	57	71	70	64	78	25	73	9	54
9	84	70	86	68	90	75	95	100	15	100
10	87	95	79	87	88	76	74	92	15	92
11	89	92	87	67	94	73	56	70	25	97
12	94	91	87	81	96	93	92	97	38	98
13	99	99	99	51	99	82	99	99	25	100
14	54	68	89	70	91	87	54	100	0	99
15	69	69	69	44	87	76	25	86	0	82
16	52	61	89	69	96	95	52	93	4	100
17	87	87	89	60	93	94	69	88	4	100
18	71	52	78	53	86	86	28	100	0	80
19	32	51	76	42	73	85	28	88	18	99
20	84	80	88	62	92	90	64	94	9	96

De um modo geral, pode dizer-se que a pasta de azeite foi bem classificada na maioria dos parâmetros. Entre os mais bem apreciados encontram-se o cheiro, o sabor, o sabor a azeite, o derreter na boca e a facilidade em barrar, critérios importantes para a aceitação de produtos alimentares em geral, bem como para produto específico em estudo, o “azeite sólido”.

Os parâmetros onde se encontra maior variabilidade de respostas são o aspecto e a textura na boca. Há que realçar que neste tipo de inquérito estão inerentes as preferências de cada

inquirido e que cada um tem a sua própria interpretação do que é agradável ou desagradável. Particularmente importante nesta avaliação é o facto do indivíduo inquirido gostar ou não de azeite e, também, o tipo de azeite de que gosta.

No critério dureza, por exemplo, a maior parte dos inquiridos classificou a pasta como bastante mole, mas não há uma percepção clara de que esta apreciação seja negativa, uma vez que no parâmetro facilidade em barrar a maioria considera a pasta fácil de barrar.

Relativamente ao cheiro a azeite, é importante referir que, neste parâmetro, a temperatura da pasta, previamente mantida no frigorífico, na altura da prova tem uma grande influência na percepção do provador. Quanto mais frio estiver o produto, mais difícil será identificar o cheiro do azeite no mesmo, dado haver uma menor libertação dos compostos voláteis responsáveis pelo cheiro e *flavour*.

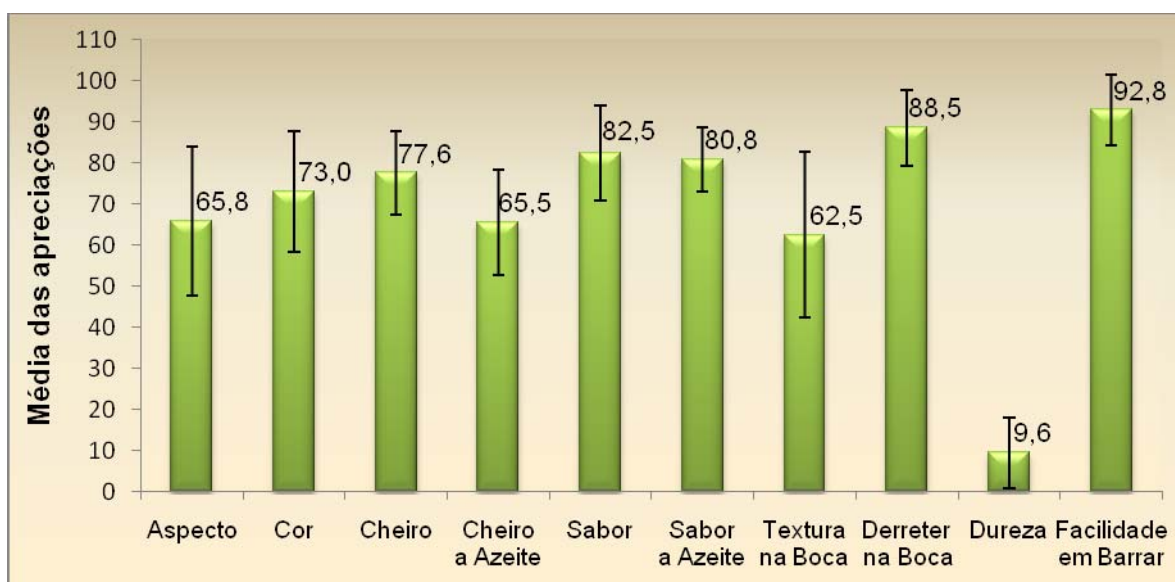


Fig. 27: Classificação da pasta de azeite quanto aos critérios avaliados no inquérito ao consumidor

A segunda parte do inquérito pretendia avaliar a apreciação global do produto e a intenção de compra. Os resultados, expressos em percentagem de indivíduos por resposta, estão representados no gráfico da figura 28.

A maioria dos inquiridos gostou, de um modo geral, da pasta de azeite e manifestou interesse em comprar o produto. Relativamente à substituição de outros produtos existentes no mercado os resultados também são positivos, indicando um potencial deste produto

como substituto de outros, com acréscimo da qualidade nutricional.

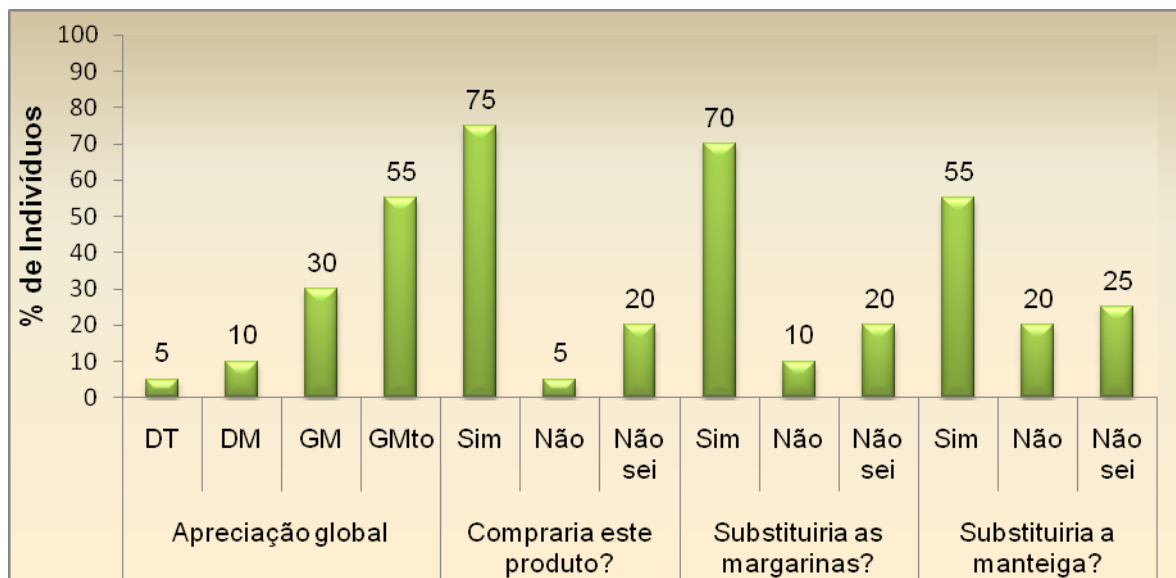


Fig. 28: Apreciação global da pasta de azeite e intenção de compra

(DT – desgosto totalmente; DM – desgosto moderadamente; GM – gosto moderadamente; GMto – gosto muito)

Grande parte dos inquiridos afirmou que substituiria as margarinas pela pasta de azeite. No entanto, há que realçar que muitos deles responderam desse modo porque não consomem de todo margarinas. Este representa mais um aspecto positivo, tendo em conta que indivíduos que não consomem, por norma, margarinas e outros cremes vegetais mostram interesse em consumir este produto novo.

Em relação à manteiga, as opiniões dividem-se um pouco, embora cerca de metade dos inquiridos afirmem que substituiriam a manteiga pela pasta de azeite. Neste caso, as divergências surgem pelos diferentes tipos de utilização da manteiga (bolos, cozinhados, pequeno-almoço, entrada numa refeição, etc.).

É de salientar a necessidade de aumentar o número de inquiridos para se obter um conjunto de resultados com menos variabilidade e chegar a uma percepção mais fidedigna quanto à aceitação deste novo produto no mercado.

5. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos nas diversas análises realizadas ao longo deste trabalho, bem como no inquérito ao consumidor, é possível retirar algumas conclusões preliminares quanto à manutenção das características químicas do azeite na pasta, mantida no frigorífico e à temperatura ambiente, quanto à capacidade de conservação do novo produto face ao azeite virgem extra, igualmente nas duas condições de armazenamento referidas, e quanto à aceitação, por parte do consumidor, da pasta de azeite.

O elevado teor de ácido oleico, uma concentração considerável, relativamente a outras gorduras, de compostos fenólicos e de tocoferóis (antioxidantes), a presença de ácidos gordos essenciais, o baixo teor de ácidos gordos saturados e a quase ausência de colesterol e de ácidos gordos de configuração *trans*, são algumas das características químicas do azeite que interessa manter na pasta.

Relativamente à acidez livre, que representa um dos parâmetros de qualidade do azeite, os resultados apontam para um aumento do seu valor na pasta de azeite. Apesar desta alteração, o grau de acidez mantém-se muito abaixo dos limites estabelecidos para os azeites virgem extra, pelo que se pode concluir que, em termos deste parâmetro, não se verifica uma grande perda de qualidade do azeite na forma de pasta. No entanto, parece importante continuar a monitorizar este parâmetro durante mais alguns meses, de modo a garantir que estes resultados se mantêm durante o prazo de validade do produto.

De acordo com a análise aos ácidos gordos, existem dois compostos na pasta, os ácidos láurico e pentadecanóico, que não existem, por norma, no azeite. Porém, é possível verificar que estão presentes em quantidades mínimas, não tendo um efeito relevante, por si só, no valor nutricional da pasta.

De um modo geral, as diferenças verificadas ao nível dos ácidos gordos indicam algum aumento do teor de ácidos gordos saturados na pasta, acompanhado de uma pequena redução do teor de ácido oleico, de ácido linoleico e de linolénico. Tratando-se de uma gordura sólida, parece razoável que a pasta de azeite apresente um teor mais elevado de ácidos gordos saturados do que o azeite na forma de óleo. No entanto, a perda de ácido oleico e dos ácidos gordos essenciais é relativamente pequena, atendendo a que os seus valores na pasta se mantêm dentro dos limites normais dos azeites. Portanto, pode verificar-

se que a perda de qualidade da pasta de azeite, face ao azeite virgem extra de origem, é relativamente pequena.

Em termos da composição em triacilgliceróis, os resultados não apresentam diferenças expressivas, pelo que se pode concluir que este parâmetro não é afectado pelo processamento da pasta de azeite.

Relativamente à composição em esteróis, parece haver uma manutenção dos níveis de β -sitosterol aparente, de estigmasterol e de Δ -7-estigmastenol do azeite na pasta. No entanto, os resultados apontam para algum aumento dos teores de colesterol e de campesterol. Apesar destas alterações, é importante verificar que os teores destes compostos se mantêm dentro dos limites estabelecidos pelo COI nos critérios de pureza do azeite e que, portanto, o seu efeito no valor nutricional da pasta é mínimo.

Ao longo do tempo, é possível verificar que há uma diminuição do teor de colesterol e de esteróis totais e um aumento no caso do eritrodiol + uvaol, tanto no azeite como na pasta refrigerada e não refrigerada, sendo a evolução dos três produtos nestes parâmetros semelhante. Porém, no caso dos esteróis totais e do eritrodiol e uvaol não parece haver diferenças relevantes entre o azeite e as pastas.

Em relação ao teor de polifenóis totais, apesar de os resultados apontarem para uma diminuição considerável na pasta de azeite, não é possível tirar uma conclusão exacta quanto a este parâmetro, dadas as dificuldades sentidas no processamento das amostras sólidas. Pode apenas admitir-se que os teores encontrados na pasta, embora estejam, muito provavelmente, aquém dos valores reais, são bastante aceitáveis para um azeite de qualidade.

A análise aos tocoferóis indica um comportamento semelhante do azeite e da pasta refrigerada relativamente ao teor de α -tocoferol, mas sugere uma melhor conservação do teor de γ -tocoferol na pasta. É possível concluir que a pasta não refrigerada é a que sofre maiores perdas dos dois tocoferóis.

O índice de peróxidos e a resistência à oxidação constituem dois outros parâmetros onde o comportamento do azeite e da pasta refrigerada é semelhante, mas a pasta conservada à temperatura ambiente parece sofrer uma perda de qualidade considerável.

Na análise espectrofotométrica as variações encontradas não parecem afectar a qualidade do azeite na forma de pasta, mas, de um modo geral, os parâmetros de oxidação analisados parecem indicar uma pior conservação da pasta não refrigerada. Torna-se importante monitorizar estes parâmetros durante mais alguns meses, de modo a ser possível tirar uma conclusão mais concreta acerca da conservação da pasta de azeite à temperatura ambiente.

No caso da análise ao teor de água da pasta de azeite, é perceptível uma perda de humidade na pasta não refrigerada face à refrigerada. Atendendo a este resultado, parece haver uma melhor estabilidade da pasta quando esta é conservada no frigorífico.

Pode concluir-se que o teor de gordura é consideravelmente elevado, quando comparado ao de outros cremes para barrar e margarinas, e que o teor de cloretos é relativamente baixo, uma vez que o produto que se aproxima, por regulamento, dos produtos com baixo teor de sal. Em termos destes parâmetros não parece haver qualquer alteração com a temperatura de conservação da pasta.

De um modo geral, os resultados obtidos em laboratório permitem concluir que algumas características químicas do azeite são mantidas na pasta e que outras, que apresentam algumas diferenças, não contribuem para uma perda de qualidade expressiva do azeite neste produto. A única excepção é o teor de ácidos gordos saturados, cujo aumento na pasta era necessário para manter a consistência desejada. Portanto, é possível admitir que a qualidade nutricional e a capacidade de conservação da pasta de azeite, mantida no frigorífico, são semelhantes às do azeite de origem.

Para além dos aspectos físico-químicos, os resultados dos inquéritos ao consumidor são positivos, indiciando uma boa aceitação da pasta de azeite no mercado. Em termos de sabor, parece claro que a maioria das pessoas reconhece as características do azeite na pasta. Entre os parâmetros mais bem apreciados no novo produto estão o sabor, o derreter na boca e a facilidade em barrar, critérios importantes para a aceitação de produtos alimentares em geral, bem como para este produto específico.

Como perspectivas futuras, é de realçar a importância de se realizar uma nova série de análises nos próximos meses, a fim de consolidar as conclusões tiradas neste trabalho. Seria também interessante efectuar novas análises, com uma pasta produzida a partir de um azeite mais novo e, portanto, com uma qualidade mais elevada.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUMRAD, N. N. & SALIBA, J. (2009). ***Nutrition and Energy for Healthy Adults***. In Handbook of Nutrition and the Kidney. Ed. Mitch, W. E & Ikizler, T. A.; 6th Edition, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 1-33. ISBN: 0-7817-9517-6.

BACCOURI, O.; BENDINI, A.; CERRETANI, L.; GUERFEL, M.; BACCOURI, B.; LERCKER, G.; ZARROUK, M.; DAOUD, D. & MILED, B. (2008). ***Comparative Study on Volatile Compounds from Tunisian and Sicilian Monovarietal Virgin Olive Oils***. Food Chemistry, 111: 322–328.

BEST, D. (1999). ***Designing New Products from a Market Perspective***. In Food Product Development - From Concept to Marketplace. Ed. Graf, E. & Saguy, I. S.; Aspen Publishers, Inc., Gaithersburg, 1-28. ISBN: 0-8342-1689-2.

BOSKOU, D. (1998). ***Química y Tecnología del Aceite de Oliva***. AMV Ediciones, Madrid, 67-104; 125-164. ISBN: 84-89922-06-3.

BOSKOU, D. (2007). ***Olive Oil***. In More on Mediterranean Diets (World Review of Nutrition and Dietetics, Vol. 97). Ed. Simopoulos, A. P. & Visioli, F.; Karger, Basel, 180-181. ISBN: 3805582196.

CALABRESE, G. (2002). ***Efectos del Aceite Virgen Extra Beneficiosos para la Salud***. Olivae, revista do Conselho Oleícola Internacional, Madrid, nº 93: 19-20.

CHESWORTH, J. M.; STUCHBURY, T.; SCAIFE, J. R. (1998). ***An Introduction to Agricultural Biochemistry***. Chapman & Hall, London, 271-279. ISBN: 0 412 643390 1.

COI – International Olive Council. ***Trade Standard Applying to Olive Oils and Olive-pomace Oils***. COI / T.15 / NC no. 3 / Rev. 3, November 2008.

CORREIA, A. A. D. & CORREIA, J. H. R. D. (1985). ***Bioquímica Animal***. 2ª Edição, Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 377-402.

DECRETO-LEI nº 59/85 de 11 de Março. Ministérios da Justiça, da Agricultura, do Comércio e Turismo e da Qualidade de Vida. Diário da República, I Série, nº 58, 11 de Março de 1985, Lisboa, 610-613.

DUARTE, A. P. C. (2003). *Estudo sobre a Influência de Dietas com Gorduras Ricas em Ácidos Monoinsaturados nalguns Parâmetros Hemáticos do Murganho em Condições de Diabetes mellitus*. Trabalho de Fim de Curso de Engenharia de Agro-industrial, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.

FEDALI, E. (1983). *Les composants mineurs des lipids*. *Révue Française des Corps Gras*, 30 (2): 51-57.

FRANKEL, E. N. (1986). *Chemistry of Autoxidation: Mechanism, Products and Flavour Significance*. In *Flavor Chemistry of Fats and Oils*. Ed. Min, D. B. & Smouse, T. H.; American Oil Chemists' Society, Champaign, 1-38. ISBN: 0935315128.

FULLER, W. G. (2005). *New Product Development – From Concept to Marketplace*. 2nd Edition, CRC Press, Boca Raton, 1-10. ISBN: 0-8493-1673-1.

GIUFFRIDA, D.; SALVO, F.; SALVO, A.; LA PERA, L. & DUGO, G. (2007). *Pigments Composition in Monovarietal Virgin Olive Oils from Various Sicilian Olive Varieties*. *Analytical, Nutritional and Clinical Methods, Food Chemistry*, 101: 833–837.

GOUVEIA, J. M. B. (1995). *Azeites Virgens do Alto Alentejo – Comportamento Químico, Tecnológico e Sensorial*. Dissertação para obtenção de grau de doutor. Instituto Superior de Agronomia, Lisboa.

GRANADOS, J. A. (2000). *Enciclopedia del Aceite de Oliva, Historia y Leyendas del aceite y la Aceituna*. Editorial Planeta, Barcelona, 109-114; 357-372. ISBN: 84-08-03542-8.

GROB, K.; LANFRANCHI, M.; MARIANI, C. (1990). *Evaluation of Olive Oils Through the Fatty Alcohols, the Sterols and their Esters by Coupled LC.GC*. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Vol. 67, nº. 10: 626.

HAMILTON, R. J. (2003). ***Oxidative rancidity as a source of off-flavours***. In Taints and Off-flavours in Food. Ed. Baigrie, B.; Woodhead Publishing Ltd., Cambridge, 140-161. ISBN: 1 85573 449 4.

HENSLEY, K.; BENAKSAS, J. E.; BOLLI, R.; COMP, P.; GRAMMAS, P.; HAMDHEYDARI, L.; MOU, S.; PYE, Q. N.; STODDARD, M. F.; WALLIS, G.; WILLIAMSON, K. S.; WEST, M.; WECHTER, W. J.; & FLOYD, R. A. (2003). ***New Perspectives on Vitamin E: G-Tocopherol and Carboxyethylhydroxymethyl Metabolites in Biology and Medicine***. Free Radical Biology & Medicine, Vol. 36, nº. 1: 1-15.

HOFFMANN, G. (1989). ***The Chemistry and Technology of Edible Oils and Fats and their High Fat Products***. Food Science and Technology. A Series of Monographs, Academy Press, San Diego, 1-28. ISBN: 0-123-52055-X.

HUANG, C. L. & SUMPIO, B. E. (2008). ***Olive Oil, the Mediterranean Diet, and Cardiovascular Health***. Article in Press, J. American College of Surgeons, Elsevier, Inc., 1-9.

JACOBOT, B. (2001). ***Interés Nutricional del Aceite de Oliva***. Olivae, revista do Conselho Oleícola Internacional, Madrid, nº 86: 27-29.

KAFATOS, A. & COMAS, G. (1992). ***Efectos Biológicos del Aceite de Oliva sobre la Salud de las Personas***. In El Aceite de Oliva. Ed. Kiritsakis, A. K.; A. Madrid Vicente, Ediciones, Madrid, 199-226. ISBN: 84-87440-28-2.

KALUA, C. M.; ALLEN, M. S.; BEDGOOD Jr, D. R.; BISHOP, A. G.; PRENZLER, P. D. & ROBARDS, K. (2007). ***Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: a critical review***. Rapid communication. Food chemistry, 100: 273-286.

KIRITSAKIS, A. K. (1992). ***El Aceite de Oliva***. A. Madrid Vicente, Ediciones, Madrid, 45-76; 77-82; 83-102; 131-156; 157-162; 163-180, ISBN: 84-87440-28-2.

KIRITSAKIS, A. (1993). ***Química del Aroma del Aceite de Oliva***. Olivae, revista do Conselho Oleícola Internacional, Madrid, nº 45: 28-33.

KIRITSAKIS, A. & CHRISTIE, W. W. (2000). ***Analysis of Edible Oils***. In Handbook of Olive Oil – Analysis and properties. Ed. Harwood J.; Aparicio R.; Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, 129-158. ISBN: 0-8342-1633-7.

KIRITSAKIS, A. K.; KYRITSAKIS, K. A. & MAVROUDI, M. N. (2001). ***Fats and Oils***. In The Mediterranean Diet: Constituents and Health Promotion. Ed. Matalas, A.-L.; Zampelas, A.; Stavrinos, V.; Wolinsky, I.; CRC Press, Boca Raton, 77-96. ISBN: 0-8493-0110-6.

KIRITSAKIS, A. & MARKAKIS, P. (1987). ***Olive Oil: A Review***. In Advances in Food Research. Ed. Chichester, C.O.; Academic Press Inc., San Diego, 453-472. ISBN: 0-1201-6431-0.

KOCHHAR, S. P. (1993). ***Oxidative Pathways to the Formation of Off-Flavours***. In Food taints and off-flavours. Ed. Saxby, M. J.; Chapman & Hall, London, 168-225. ISBN: 0-7514-0263-X.

LET - Laboratório de Estudos Técnicos. ***Determinação dos Tocoferóis por HPLC (Procedimento Interno)***. Código IT 064.

LET - Laboratório de Estudos Técnicos. ***Determinação dos Polifenóis Totais (Procedimento Interno)***. Código IT 065.

LET - Laboratório de Estudos Técnicos. ***Determinação do Teor de Gordura em Margarinas e Cremes de Barrar (Procedimento Interno)***. Código IT 076.

MARCH, L. & RÍOS, A. (1989). ***El Libro del Aceite y la Aceituna***. Alianza Editorial, S. A., Madrid, 167-173. ISBN: 8-4206-0433-X.

MENSINK, R. P. & KATAN, M. B. (1989). ***Effect of Dietary Trans Fatty Acids on High-Density and Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels in Healthy Subjects***. The New England Journal of Medicine, 323 (7): 439-445.

MORALES, M.T.; LUNA, G.; APARICIO, R. (2005). ***Comparative study of virgin olive oil sensory defects***. Food Chemistry, 91: 293–301.

MORALES, M. A. & PRZYBYLSKI, R. (2000). ***Olive Oil Oxidation***. In Handbook of Olive Oil – Analysis and properties. Ed. Harwood J.; Aparicio R.; Aspen Publishers, Inc. Gaithersburg, 459-490. ISBN: 0-8342-1633-7.

NAWAR, W. W. (1997). ***Biochemical Processes: Lipid Instability***. In Food Storage Stability. Ed. Taub, I. A. & Singh, R. P.; CRC Press, Boca Raton, 92-93. ISBN: 0-8493-2646-X.

NESTLE, M. (2007). ***Food Politics – How Food Industry Influences Nutrition and Health***. 2nd Edition, University of California Press, Berkeley, 1-11. ISBN: 978-0-520-25403-9.

NISSIOTIS, M.; TASIOULA-MARGARI, M. (2002). ***Changes in Antioxidant Concentration of Virgin Olive Oil During Thermal Oxidation***. Analytical, Nutritional and Clinical Methods, Food Chemistry, 77: 371–376.

NORMA PORTUGUESA, NP 199 (1991). ***Gorduras e Óleos Comestíveis, Determinação da Resistência à Oxidação (Ensaio de Oxidação Acelerada)***.

NORMA PORTUGUESA, NP 898 (1985). ***Gorduras e Óleos Comestíveis, Margarinas, Determinação do Teor de Água***.

NORMA PORTUGUESA, NP 901 (2005). ***Óleos e Gorduras de Origem Animal e Vegetal, Margarinas e Cremes para Barrar, Determinação do Teor de Cloretos***.

O'BRIEN, R. D. (2009). ***Fats and Oils Formulating and Processing for Applications***. 3rd Edition, CRC Press, Boca Raton, 166-167. ISBN: 1-42006-166-6.

PERRIN, J. L. (1992). ***Les Composés Mineurs et les Antioxygènes Naturels de l'Olive et de son Huile***. Revue Française des Corps Gras, 39 (1/2): 25-32.

PIOCH, D.; LOZANO, P.; FRATER, C.; GRAILLE, J. (1991). ***Méthode Rapide de Dosage des Stérols dans des Milieux Complexes***. Révue Française des Corps Gras, 38 (11/12): 381-385.

RAMÍRES-TORTOSA, M. C., GRANADOS, S. & QUILES, J. L. (2006). ***Chemical Composition, Types and Characteristics of Olive Oil***. In Olive Oil and Health. Ed. Quiles,

J. L., Ramíres-Tortosa, M. C. & Yaqoob, P.; CABI Publishing, Oxfordshire, 45-63. ISBN: 1-84593-068-1.

REGULAMENTO (CEE) *nº 2568/91 da Comissão de 11 de Julho de 1991, relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, bem como aos métodos de análise relacionados*. Jornal Oficial das Comunidades Europeias, L248, 5 de Setembro de 1991.

REGULAMENTO (CE) *nº 2991/94 da comissão de 5 de Dezembro de 1994, que institui normas relativas às matérias gordas para barrar*. Jornal Oficial da União Europeia, L316, 9 de Dezembro de 1994.

REGULAMENTO (CE) *nº 796/2002 da Comissão de 6 de Maio de 2002, que altera o Regulamento (CEE) nº 2568/91 relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, bem como aos métodos de análise relacionados, e as notas complementares constantes do anexo do Regulamento (CEE) nº 2658/87 do Conselho relativo à nomenclatura pautal e estatística e à pauta aduaneira comum*. Jornal Oficial da União Europeia, L128, 15 de Maio de 2002.

REGULAMENTO (CE) *n.º 865/2004 do Conselho de 29 de Abril de 2004, relativo à organização comum de mercado no sector do azeite e da azeitona de mesa e que altera o Regulamento (CEE) n.º 827/68*. Jornal Oficial da União Europeia, L206, 9 de Junho de 2004.

REGULAMENTO (CE) *n.º 1924/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de Dezembro de 2006, às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos*. Jornal Oficial da União Europeia, L12, 18 de Janeiro de 2007.

REGULAMENTO (CE) *nº 702/2007 da Comissão de 21 de Junho de 2007, que altera o Regulamento (CEE) nº 2568/91 relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, bem como aos métodos de análise relacionados*. Jornal Oficial da União Europeia, L161, 22 de Junho de 2007.

RIDGWELL, J. (2001). *GCSE Food Technology for OCR*. 2nd Edition, Heinemann Educational Publishers, Oxford, 7-21. ISBN: 0-435-41951-X.

RYAN, D.; ROBARDS, K. & LAVEE S. (1998). ***Evaluación de la calidad del aceite de oliva***. Olivae, revista do Conselho Oleícola Internacional, Madrid, nº 72: 23-39.

SPEEK, A. J.; SCHRIJVER, J. & SCHREURS, W. H. P. (1985). ***Vitamin E Composition of Some Seed Oils as Determined by High Performance Liquid Chromatography with Fluorometric Detection***. Journal of Food Science, 50: 122.

TOOPS, D. (2007). ***How Did the Food Industry Get (from There) to Here?***. In Accelerating New Food Product Design and Development. Ed. Beckley, J. H.; Foley, M. M.; Toop, E. J.; Huang, j. C.; Prinyawiwatkul, W.; Blackwell Publishing, Oxford, 7-26. ISBN: 0-8138-0809-X.

TRICHOPOULOU, A.; LAGIOU, P.; PAPAS, A. M. (1999). ***Mediterranean Diet: Are Antioxidants Central to its Benefits?*** In Antioxidant Status, Diet, Nutrition, and Health. Ed. Papas, A. M.; CRC Press, Boca Raton, 107-118. ISBN: 0-8493-8009-X.

TRICHOPOULOU, A. & LAGIOU, P. (2001). ***The Mediterranean Diet: Definition, Epidemiological Aspects, and Current Patterns***. In The Mediterranean Diet: Constituents and Health Promotion. Ed. Matalas, A.-L.; Zampelas, A.; Stavrinou, V.; Wolinsky, I.; CRC Press, Boca Raton, 53-76. ISBN: 0-8493-0110-6.

TRIPOLI, E.; GIAMMANCO, M.; TABACCHI, G.; DI MAJO, D.; GIAMMANCO, S. & LA GUARDIA, M. (2005). ***The Phenolic Compounds of Olive Oil: Structure, Biological Activity and Beneficial Effects on Human Health***. Nutrition Research Reviews, 18: 98-112.

TUCK, K. L.; HAYBALL, P. J. (2002). ***Major Phenolic Compounds in Olive Oil: Metabolism and Health Effects***. Reviews: Current Topics, Journal of Nutritional Biochemistry, 13: 636-644.

UZZAN, A. (1996). ***The Olive and Olive Oil***. In Oils & Fats Manual - A Comprehensive Treatise, Vol. 1. Ed. Karleskind, A.; Intercept Ltd., Hampshire, 225-231. ISBN: 1-898298-08-4.

Anexos

ANEXO I

CARACTERÍSTICAS DOS AZEITES

Categoria	Acidez (%) (*)	Índice de peróxidos mEq O ₂ /kg (*)	Ceras mg/kg (**)	Monopalmitato de 2-glicerilo (%)	Estigmas-tadino mg/kg (†)	Diferença entre o ECN42 determinado por HPLC e o ECN42 obtido por cálculo teórico	K ₂₃₂ (*)	K ₂₇₀ (*)	Delta-K (*)	Exame organoléptico Mediana dos defeitos (Md) (*)	Exame organoléptico Mediana do frutado (Md) (*)
1. Azeite virgem extra	≤ 0,8	≤ 20	≤ 250	≤ 0,9 se % ácido palmítico total ≤ 14 % ≤ 1,0 se % ácido palmítico total > 14 %	≤ 0,10	≤ 0,2	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01	Md = 0	Mf > 0
2. Azeite virgem	≤ 2,0	≤ 20	≤ 250	≤ 0,9 se % ácido palmítico total ≤ 14 % ≤ 1,0 se % ácido palmítico total > 14 %	≤ 0,10	≤ 0,2	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01	Md ≤ 2,5	Mf > 0
3. Azeite lampante	> 2,0	—	≤ 300 (‡)	≤ 0,9 se % ácido palmítico total ≤ 14 % ≤ 1,1 se % ácido palmítico total > 14 %	≤ 0,50	≤ 0,3	—	—	—	Md > 2,5 (‡)	—
4. Azeite refinado	≤ 0,3	≤ 5	≤ 350	≤ 0,9 se % ácido palmítico total ≤ 14 % ≤ 1,1 se % ácido palmítico total > 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 1,10	≤ 0,16	—	—
5. Azeite (constituído por azeites refinados e azeites virgens)	≤ 1,0	≤ 15	≤ 350	≤ 0,9 se % ácido palmítico total ≤ 14 % ≤ 1,1 se % ácido palmítico total > 14 %	—	≤ 0,3	—	≤ 0,90	≤ 0,15	—	—
6. Óleo de bagaço de azeitona bruto	—	—	> 350 (‡)	≤ 0,9 se % ácido palmítico total ≤ 14 % ≤ 1,0 se % ácido palmítico total > 14 %	—	≤ 0,6	—	—	—	—	—
7. Óleo de bagaço de azeitona refinado	≤ 0,3	≤ 5	> 350	≤ 1,4	—	≤ 0,5	—	≤ 2,00	≤ 0,20	—	—
8. Óleo de bagaço de azeitona	≤ 1,0	≤ 15	> 350	≤ 1,2	—	≤ 0,5	—	≤ 1,70	≤ 0,18	—	—

(†) Soma dos isómeros — separáveis ou não em coluna capilar.

(‡) Ou quando a mediana dos defeitos for inferior ou igual a 2,5 e a mediana do frutado igual a 0.

(§) Os azeites cujo teor de ceras esteja compreendido entre 300 mg/kg e 350 mg/kg serão considerados azeite lampante se o teor de álcoois alifáticos totais for inferior ou igual a 350 mg/kg ou se a percentagem de citrodol e uvaol for inferior ou igual a 3,5.

(¶) Os óleos cujo teor de ceras esteja compreendido entre 300 mg/kg e 350 mg/kg são considerados óleo de bagaço de azeitona bruto se o teor de álcoois alifáticos totais for superior a 350 mg/kg e a percentagem de citrodol e uvaol for superior a 3,5.

Categoria	Teor de ácidos (*)					Soma dos isómeros trans-linoléicos + trans-linolénicos (%)	Composição esterólica						Esteróis totais (mg/kg)	Eritrodol e uvalol (%) (**)
	Mirístico (%)	Linoléico (%)	Araquídico (%)	Elco-senólico (%)	Bénico (%)	Lignocérico (%)	Colésterol (%)	Brasi-castrol (%)	Campa-strol (%)	Estigmastrol (%)	Betasitosterol (%) (2)	Delta-7-estigmastrol (%)		
1. Azeite virgem extra	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
2. Azeite virgem	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
3. Azeite lampante	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5 (3)
4. Azeite refinado	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
5. Azeite (constituído por azeites refinados e azeites virgens)	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,2	≤ 0,2	≤ 0,5	≤ 0,1	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 000	≤ 4,5
6. Óleo de bagaço de azeitona bruto	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	—	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 2 500	> 4,5 (4)
7. Óleo de bagaço de azeitona refinado	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 800	> 4,5
8. Óleo de bagaço de azeitona	≤ 0,05	≤ 1,0	≤ 0,6	≤ 0,4	≤ 0,3	≤ 0,2	≤ 0,5	≤ 0,2	≤ 4,0	< Camp.	≥ 93,0	≤ 0,5	≥ 1 600	> 4,5

(1) Teores de outros ácidos gordos (%): palmítico: 7,5-20,0; palmítico: 0,3-3,5; heptadecanoico: ≤ 0,3; octadecanoico: 0,5-5,0; oleico: 55,0-83,0; linoleico: 3,5-21,0.

(2) Soma de delta-5,23-estigmastadienol + estosterol + beta-sitosterol + sitosterol + delta-5-avenasterol + delta-5,24-estigmastadienol.

(3) Os azeites cujo teor de cereas esteja compreendido entre 300 mg/kg e 350 mg/kg serão considerados azeite lampante se o teor de álcoois alifáticos totais for inferior ou igual a 350 mg/kg ou se a percentagem de eritrodol e uvalol for inferior ou igual a 3,5.

(4) Os óleos cujo teor de cereas esteja compreendido entre 300 mg/kg e 350 mg/kg serão considerados óleo de bagaço de azeitona bruto se o teor de álcoois alifáticos totais for superior a 350 mg/kg e se a percentagem de eritrodol e uvalol for superior a 3,5.

Notas:

a) Os resultados das análises devem ser expressos com um número de algarismos significativos idêntico ao previsto para cada característica.

Se o algarismo seguinte for superior a 4, o último algarismo significativo deve ser aumentado de uma unidade.

b) Basta que uma das características esteja fora dos limites fixados para que o produto seja classificado noutra categoria ou declarado não conforme quanto à sua pureza.

c) O asterisco (*) associado a determinadas características de qualidade do azeite significa o seguinte:

— no caso do azeite lampante, que os limites correspondentes podem não ser observados simultaneamente;

— no caso dos azeites virgens, que a não observância de um dos limites correspondentes implica uma mudança de categoria, mantendo-se, porém, a classificação numa das categorias de azeites virgens.

d) No caso dos óleos de bagaço de azeitona, os limites relativos às características assinaladas com dois asteriscos (**) podem não ser observados simultaneamente.